LA CIENCIAS BIOLÓGICAS

y la construcción de nuevos paradigmas de conocimiento

Daniela Reis Joaquim de Freitas
(Organizadora)

Ano 2023

LA CIENCIAS BIOLÓGICAS

y la construcción de nuevos paradigmas de conocimiento

Daniela Reis Joaquim de Freitas
(Organizadora)

Ano 2023

Las ciencias biológicas y la construcción de nuevos paradigmas de conocimiento

Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Yaiddy Paola Martinez
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Organizadora: Daniela Reis Joaquim de Freitas

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C569 Las ciencias biológicas y la construcción de nuevos paradigmas de conocimiento / Organizadora Daniela Reis Joaquim de Freitas. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2023.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-258-1804-7
DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.047231110

1. Ciencias biológicas. I. Freitas, Daniela Reis Joaquim de (Organizador). II. Título.

CDD 570

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

APRESENTAÇÃO

As ciências biológicas são um campo de estudo que se dedica à compreensão dos organismos vivos e dos processos que ocorrem neles, bem como do estudo de suas interações. É uma área que engloba várias disciplinas, como biologia molecular, genética, fisiologia, ecologia, evolução e muitas outras.

Com o desenvolvimento da tecnologia, ao longo do tempo, as ciências biológicas passaram por diversas transformações e avanços significativos, resultando na construção de novos paradigmas de conhecimento.

A construção de novos paradigmas de conhecimento nas ciências biológicas é um processo contínuo e dinâmico. À medida que novas tecnologias são desenvolvidas e novas descobertas são feitas, nossa compreensão dos seres vivos e dos processos biológicos continua a evoluir. Esses novos paradigmas têm o potencial de transformar a forma como vemos e interagimos com o mundo natural, além de abrir novas possibilidades para a pesquisa e a aplicação da biologia. Por exemplo, com o avanço da bioinformática, que combina a biologia e a informática, tem ocorrido a análise de grandes quantidades de dados biológicos e a descoberta de padrões e relações complexas.

Nesta obra, Las ciencias biológicas y la construcción de nuevos paradigmas de conocimiento", são apresentados trabalhos que englobam a intersecção entre teoria, prática e metodologia científica, buscando inovar com novas descobertas. São apresentados, ao longo de sete capítulos, trabalhos científicos originais e de revisões, que abordam diferentes áreas da biologia.

A Atena Editora possui um corpo editorial pertencente às melhores universidades do Brasil e responsável por selecionar material de qualidade e relevância, como a obra que aqui apresentamos. Esperamos que você tenha uma boa leitura!

Daniela Reis Joaquim de Freitas

SUMÁRIO

ANÁLISIS DE microRNAs CIRCULANTES EN PLASMA DE PACIENTES CON CÁNCER GÁSTRICO

Data de submissão: 06/09/2023 *Data de aceite: 02/10/2023*

Martha Eugenia Ruiz Tachiquín
Instituto Mexicano del Seguro Social, Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas, Ciudad de México ORCID:0000-0003-3407-1467

Rosa María Ribas-Aparicio
Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-Microbiología, Ciudad de México ORCID: 0000-0002-1141-2794

Mayra Cecilia Suárez Arriaga
Secretaría de Salud, Hospital Infantil de México “Federico Gómez”, Laboratorio de Virología y Cáncer, Ciudad de México ORCID: 0000-0001-8247-1081

Hilda Alicia Valdez Salazar
Instituto Mexicano del Seguro Social, Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, Ciudad de México ORCID: 0000-0002-0161-4376

RESUMEN: El cáncer gástrico (CG) ocupa el quinto lugar en incidencia y cuarto como causa de muerte por cáncer en el mundo. El CG tiene un origen multifactorial: dieta, estilo de vida, genética, factores socioeconómicos y se ha observado que el 80 % de los casos de CG de tipo intestinal se asociacian con la infección previa de *Helicobacter pylori.* Dentro de la patogénesis molecular, se ven involucrados los cambios en el perfil de expresión de los microRNAs. El estudio de la relación de los microRNAs y el cáncer es un proceso complejo, a causa de dos variantes: la diversidad genética de las células implicadas y la desregulación de diversos microRNAs en el tumor. Sin embargo, en diversos estudios, se describe su participación en varios tipos de cáncer, mediante la regulación de oncogenes y genes supresores de tumor. La creciente tasa de incidencia de CG muestra que, a pesar de los esfuerzos realizados a la fecha, existe una necesidad urgente de desarrollar nuevos métodos que permitan detectar este padecimiento en etapas tempranas, empleando técnicas poco invasivas, con una alta sensibilidad y especificidad. Se ha demostrado en diversos estudios que, los microRNAs son moléculas muy específicas, sensibles y altamente estables en plasma/suero, al evadir la actividad de la RNasa, debido a su empaquetamiento en exosomas y cuerpos apoptóticos y su capacidad de formar complejos con lipoproteínas y proteínas de unión. Aunado

a esto, como se ha descrito anteriormente, poseen diferentes patrones de expresión en tejidos cancerosos y en tejidos no cancerosos, lo cual, los hace candidatos para emplearse como marcadores.
PALABRAS-CLAVE: cáncer gástrico, microRNAs circulantes, plasma, suero

ANALYSIS OF CIRCULATING microRNAs IN PLASMA OF GASTRIC CANCER PATIENTS

ABSTRACT: Gastric cancer (GC) ranks fifth in incidence and fourth as the cause of cancer death in the world. GC has a multifactorial origin: diet, lifestyle, genetics, socioeconomic factors, and it has been observed that 80 % of cases of intestinal GC are associated with previous *Helicobacter pylori* infection. Within molecular pathogenesis, changes in the expression profile of microRNAs are involved. The study of the relationship between microRNAs and cancer is a complex process, due to two variants: the genetic diversity of the cells involved and the deregulation of various microRNAs in the tumor. However, in various studies, its participation in various types of cancer is described, through the regulation of oncogenes and tumor suppressor genes. The growing incidence rate of GC shows that, despite the efforts made to date, there is an urgent need to develop new methods that allow detecting this condition in its early stages, using minimally invasive techniques, with high sensitivity and specificity. It has been shown in various studies that microRNAs are very specific, sensitive, and highly stable molecules in plasma/serum, by evading RNase activity, due to their packaging in exosomes and apoptotic bodies and their ability to form complexes with lipoproteins and binding proteins. In addition to this, as previously described, they have different expression patterns in cancerous and non-cancerous tissues, which makes them candidates for use as markers.
KEYWORDS: gastric cancer, circulating microRNA, plasma, serum

1 I CÁNCER GÁSTRICO

1.1 EPIDEMIOLOGÍA

A nivel mundial, se estima que hubo 20 millones de nuevos casos de cáncer y 10 millones de muertes por cáncer. La carga del cáncer aumentará aproximadamente en un 60% durante las próximas dos décadas, lo que afectará aún más a los sistemas de salud, a las personas y a las comunidades (*URL 1*). El cáncer gástrico (CG) ocupa el quinto lugar en incidencia y cuarto como causa de muerte por cáncer a nivel mundial (*URL 2*). Existen altas tasas de incidencia y mortalidad en América Central y América del Sur (*URL 3*). De acuerdo, a las estadísticas del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), entre los jóvenes de 20 a 29 años la principal causa de defunción por tipo de cáncer fue la leucemia. En hombres la tasa fue de 0.31 por cada 10 mil, y en mujeres, de 0.20 por cada 10 mil. Después de esta causa, hay diferencias por sexo. En los hombres destacaron las defunciones por tumor maligno de las meninges, del encéfalo y de otras partes del sistema nervioso central; tumor maligno de estómago y linfoma no Hodgkin. En

las mujeres, le siguieron por orden de importancia el tumor maligno del cuello del útero, el tumor maligno de la mama y el tumor maligno de ovario. Para los hombres de entre 30 y 59 años, destacaron las defunciones por tumor maligno del colon, del recto y del ano, con una tasa de 0.60 defunciones por cada 10 mil varones, seguido del tumor maligno de estómago con una tasa de 0.47 por cada 10 mil hombres (*URL 4*).

1.2 PATOLOGÍA

El CG se refiere a cualquier neoplasia maligna que tenga origen en una región entre la unión gastroesofágica y el píloro. El 95 % de los tumores desarrollados en estómago son de origen epitelial, por lo que, se les denominan adenocarcinomas de estómago. El origen policlonal y multifocal de los tumores aunado a los diversos tipos celulares, presentes en la mucosa gástrica hacen que una clasificación histológica basada en morfología sea compleja. Sin embargo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el sistema de clasificación de Lauren (Lauren, 1965) han descrito dos tipos de CG con base al tipo histológico y el patrón de crecimiento: intestinal y difuso. El CG de tipo intestinal o diferenciado está caracterizado por un crecimiento localizado y expansivo; generalmente, este tipo de tumores se asientan en regiones donde de manera previa se había desarrollado una metaplasia intestinal. El CG difuso tiene un patrón de crecimiento infiltrante, es un adenocarcinoma indiferenciado y presenta células dispersas con capacidad invasora individual o en grupo (Espejo-Romero & Navarrete-Siancas, 2003).

1.3 CASCADA PRECANCEROSA GÁSTRICA

El desarrollo de CG intestinal está precedido por un proceso precanceroso de varios años y etapas, cada una de ellas caracterizadas histológicamente, la cascada propuesta inicia con gastritis crónica activa, gastritis atrófica multifocal, metaplasia intestinal completa, metaplasia intestinal incompleta, displasia y adenocarcinoma (Piazuelo, 2010) (Figura 1).

Figura 1. **Lesiones gástricas secuenciales que preceden al cáncer gástrico intestinal**. El desarrollo de cáncer gástrico está antecedido por una serie de evento en cascada.

1.4 ETIOLOGÍA

El CG como muchos otros tipos de cáncer, tiene un origen multifactorial: dieta, estilo de vida, genética, factores socioeconómicos y se ha observado que el 80 % de los casos de CG de tipo intestinal tiene asociación a la infección previa por *H. pylori* (Figura 2) (Nagini, 2012; McLean & El-Omar, 2014).

El CG presenta una etiología compleja, la mayor parte se debe a un conjunto de factores entre alteraciones genéticas y factores externos. Sin embargo, se ha reportado que menos del 3 % se debe a la herencia, la cual involucra cáncer gástrico difuso hereditario, poliposis proximal de estómago y cáncer colorrectal hereditario no asociado a poliposis (Nagini, 2012).

Dentro de la patogénesis molecular, se ven involucradas la inestabilidad cromosómica (aneuploidía, translocación, amplificación, deleciones y pérdida de la heterocigosidad), la fusión de genes, la inestabilidad de los microsatélites (hipermetilación de promotores de genes de reparación de daño) y los cambios en el perfil de expresión de microRNAs (McLean & El-Omar, 2014).

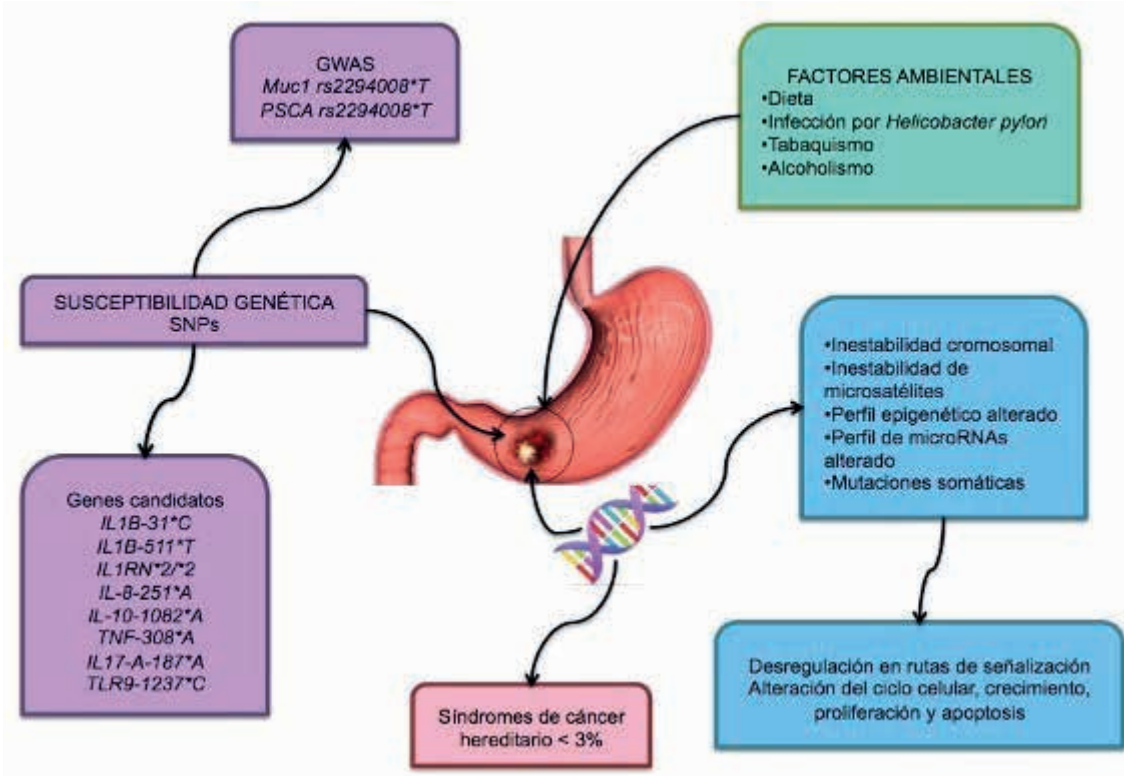



Figura 2. **Etiología del cáncer gástrico.** La patogénesis del cáncer gástrico es multifactorial y heterogénea, engloba tanto factores ambientales como alteraciones cromosómicas y susceptibilidad genética (**GWAS-estudios de asociación del genoma completo, *SNPs polimorfismos de un solo nucleótido) (Modificado de McLean & El-Omar, 2014).

2 I EL PAPEL DE LOS microRNAs EN EL CÁNCER

2.1 BIOGÉNESIS

Los microRNAs son moléculas de RNA no codificantes de cadena sencilla, con un tamaño de 17 a 25 nucleótidos (nt). Constituyen la clase dominante de los RNAs pequeños. Los microRNAs se transcriben de regiones intergénicas de manera individual o en grupos, generados por un solo transcrito. Estas moléculas son ubicuas pero su expresión puede ser específica en diferentes tejidos o de manera temporal, dependiendo del estado en el que se encuentre la célula (Bartel, 2004; Lugo-Trampe & Trujillo-Murillo, 2009).

La biogénesis de los microRNAs en células animales depende del origen de éstos. Algunos genes de microRNAs están localizados en exones e intrones de RNA codificante y no codificante, respectivamente. La vía canónica comienza con la transcripción del material genético llevado a cabo por la RNA polimerasa II, el transcrito primario generado es denominado pri-miRNA, dentro de este transcrito se encuentra una estructura de tallo y asa de 60-70 nt, llamada pre-miRNA. El pri-miRNA es procesado en el núcleo por un complejo

proteico formado por una RNasa de tipo II (DROSHA) y una proteína con dominios de unión a RNA de doble cadena (DGCR8), en el cual, el pre-miRNA es liberado; los pri-miRNAs de origen intrónico son procesados por el empalmosoma y componentes exosomales que dan origen a los pre-miRNAs. Los pre-miRNAs generados son transportados a citoplasma por el factor nuclear de exportación: exportina 5; una vez en el citoplasma, sufren otro procesamiento, en el cual, el asa terminal es eliminada por una RNasa tipo III (DICER), generando un RNA de doble cadena de 21 pares de bases (pb). En seguida, este RNA es procesado por el complejo RISC (complejo de silenciamiento inducido por RNA) que es el efector del silenciamiento de los RNA mensajeros (RNAm). El RISC genera un microRNA funcional, al degradar una de las cadenas del RNA pequeño, y al existir una hibridación parcial de éste con el RNAm celular, este complejo detiene la transcripción o degrada el RNAm al existir una complementariedad total. Generalmente, los microRNAs se unen a la región 3'-*UTR* (región no traducible) del RNAm blanco. Los mecanismos de represión post-traduccional que se han propuesto son: 1) bloqueo del inicio de la traducción, 2) represión de post-inicio de la traducción y 3) desestabilización del RNAm por un proceso de deadenilación (Lugo-Trampe & Trujillo-Murillo, 2009; Ha & Kim, 2014) (Figura 3).

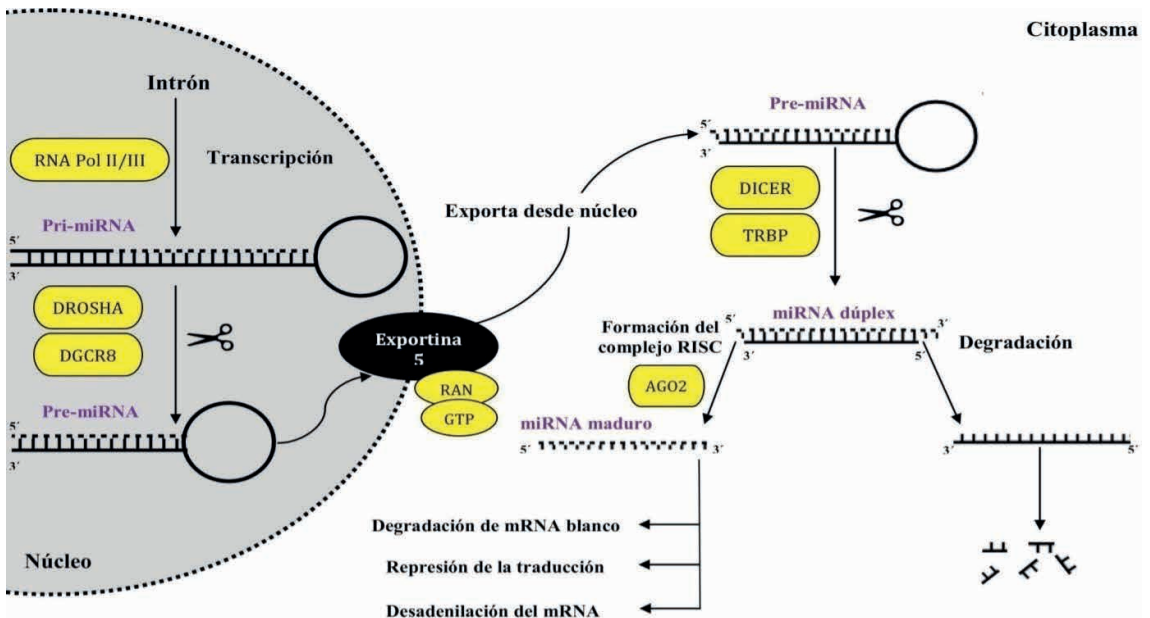



Figura 3. Biogénesis de los microRNAs. Comienza con la transcripción del material genético en el núcleo, posteriormente continua el proceso en el citoplasma (Arroyo-Rodríguez & Salloum-Astar, 2013). Figura hecha por Brian A. Ramírez Cruz.

2.2 microRNAs EN EL CÁNCER

Debido a la participación de los microRNAs en procesos como la proliferación celular, control del ciclo celular, apoptosis, diferenciación y metabolismo, se les ha implicado en el desarrollo del proceso carcinogénico (Lu *et al*., 2005; Arroyo-Rodríguez & Salloum-Asfar, 2013). El estudio de la relación de los microRNAs y el cáncer es un proceso complejo, a causa de dos principales variantes: 1) la diversidad genética de las células implicadas en el cáncer y 2) la desregulación de diversos microRNAs en el tumor (Jansson & Lund, 2012). Sin embargo, se han realizado diversos estudios en los que se ha encontrado su participación en diversos tipos de cáncer (Munker & Calin, 2011; Volinia *et al.,* 2006; Lu *et al*., 2005). La participación de los microRNAs en un cáncer puede estar dada por su acción sobre oncogenes y genes supresores de tumor (Calin *et al.,* 2004).

Los microRNAs pueden estar sobreexpresados o subexpresados en el cáncer. No obstante, la ponderación en este proceso es la subexpresión (Lu *et al*., 2005), esta alteración genera la pérdida o ganancia de funciones en las células. En el cáncer los principales factores que poseen un efecto sobre la expresión de microRNAs son: activación de factores de la transcripción, alteraciones a nivel cromosómico (amplificación y deleción), mutaciones puntuales, metilación de promotores. Además, la represión de la biogénesis de los microRNAs por mutaciones en componentes de la vía de su procesamiento, promueven la transformación maligna y la carcinogénesis (Jansson & Lund, 2012) (Figura 4).

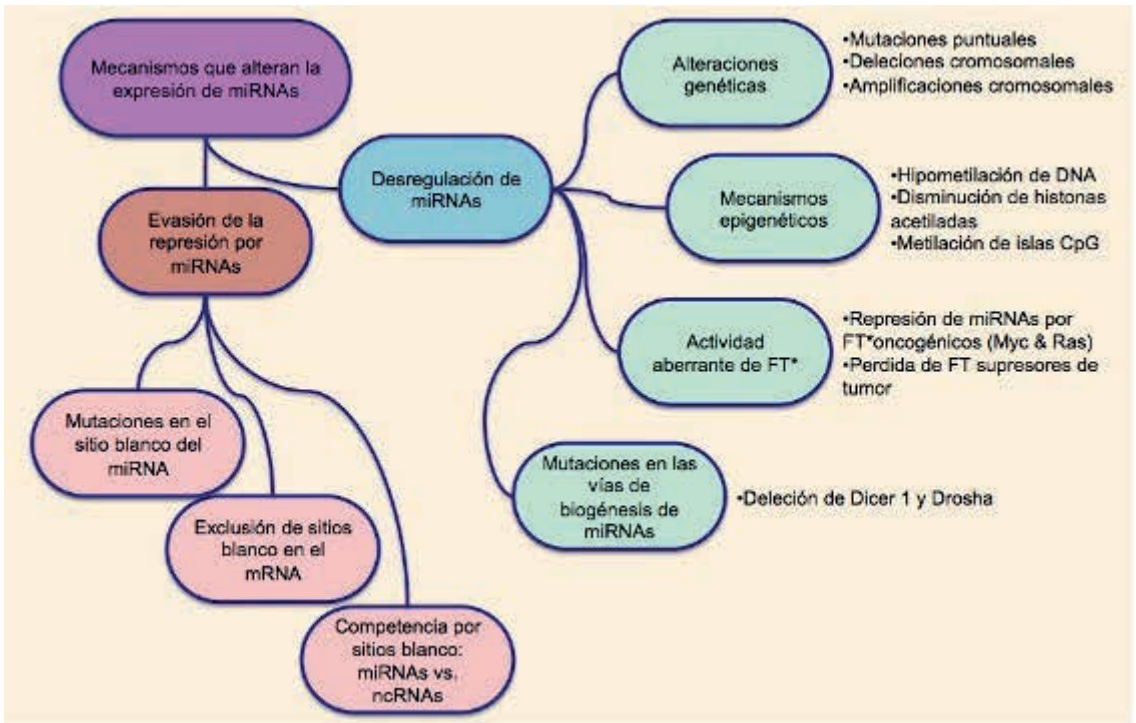



Figura 4. Mecanismos involucrados en la alteración de la expresión de microRNAs en cáncer. La desregulación en la expresión de microRNAs está principalmente asociada a alteraciones genéticas, epigenéticas, mutaciones en la biogénesis, actividad aberrante de diferentes factores de transcripción y evasión de la represión por microRNAs por diversos mecanismos.*Factores de transcripción.

2.3 microRNAs Y CÁNCER GÁSTRICO

La expresión específica de microRNAs se ha asociado a CG (Bou *et al*., 2011; Feng *et al*., 2010; Ueda *et al*., 2010; Kim *et al*., 2009), encontrando desregulación de estas moléculas, relacionándolo con la disminución de la expresión de genes supresores de tumor, aumento de oncogenes y favoreciendo la aparición de células cancerosas. Los microRNAs juegan un papel como oncomiRNAs, al inhibir genes supresores de tumores y la disminución de la expresión de microRNAs supresores de tumor lleva a la expresión descontrolada de oncogenes.

Existen diversos reportes de funcionalidad de microRNAs en el CG, se ha encontrado que la sobreexpresión de miR-181a en células de CG SGC-7901, reprime la expresión del gen supresor de tumor *KLF6,* promoviendo la proliferación, la formación de colonias, la invasión y la inhibición de la apoptosis (Zhang *et al*., 2012). La pérdida de la expresión de miR-449 lleva a la disminución de la expresión de diversos genes supresores de tumor como *p53* y *p21* (Bou *et al*., 2011). Los *clústeres* miR-221, miR-222 y miR-106b-25 son sobreexpresados en tejido de CG, éstos suprimen la expresión de inhibidores de cinasas dependientes de ciclinas (p21, p27 y p57) (Kim *et al*., 2009). miR-148a tiene como blanco

p27, la sobreexpresión de este microRNA promueve la proliferación celular y la progresión del ciclo celular (Guo *et al.*, 2011). La regulación de las vías apoptóticas está regulada por microRNAs, los miembros de la familia BCL2 forman parte de estos mecanismos. La sobreexpresión de miR-15b, miR-16 y miR-181b reducen el nivel de BCL2 en células de CG (Xia *et al.*, 2008; Zhu *et al.*, 2010). Otras investigaciones han encontrado relación entre SOX2 (participa en el arresto del ciclo celular) y el incremento en la expresión de miR-126 (Otsubo *et al.*, 2011). Se ha reportado que este microRNA posee una función de gen supresor de tumor y su blanco es el RNAm p38 (CRK), que es un adaptador proteico que participa en vías de señalización que regulan a la adhesión celular, la proliferación y la migración (Feng *et al.*, 2010). Se ha propuesto una serie de microRNAs expresados fundamentalmente desde el proceso de la tumorogénesis hasta la metástasis (Wang J. *et al.*, 2015).

La expresión de microRNAs en diferentes etapas del proceso de carcinogénesis, permite suponer que es posible emplear a estas moléculas como biomarcadores, que permitan la detección del CG en sus diferentes etapas (Tabla 1).

2.4 microRNAs COMO BIOMARCADORES EN PLASMA

La creciente tasa de incidencia de CG muestra que, a pesar de los esfuerzos realizados a la fecha, existe una necesidad urgente del desarrollo de nuevos métodos que permitan detectar este padecimiento en etapas tempranas, empleando métodos poco invasivos y con una alta sensibilidad y especificidad. Se ha demostrado en diversos estudios que los microRNAs son moléculas muy específicas, sensibles y altamente estables en plasma/suero, al evadir la actividad de la RNasa (Mitchell *et al.*, 2008), debido a su empaquetamiento en exosomas y cuerpos apoptóticos, y su capacidad de formar complejos con lipoproteínas y proteínas de unión (Creemers *et al.,* 2012). Aunado a esto, como se ha descrito anteriormente, poseen diferentes patrones de expresión en tejidos cancerosos y en tejidos no cancerosos, lo cual, las hace candidatos para emplearse como biomarcadores.

Investigaciones anteriores han postulado diferentes microRNAs como candidatos a biomarcadores para la detección de CG. Li y colaboradores (2012) describieron a miR-223, miR-21 y miR-218 como participantes en el proceso de tumorigénesis y metástasis. Reportaron que miR-223 y miR-21 tienen niveles de expresión al alza (sobreexpresados) en plasmas de pacientes con CG *versus* individuos sanos, y que miR-218 tiene un nivel de expresión a la baja (subexpresado) que los plasmas controles, lo anterior con significancia estadística. Sin embargo, estos resultados son dependientes de la etapa cancerosa y de la infección previa con *H. pylori* (Li *et al.*, 2012). Gorur y colaboradores (2013) realizaron el análisis del perfil de expresión de 740 microRNAs; ellos reportaron a miR-195-5p subexpresado en las muestras de suero analizadas. Song *et al.,* (2012) encontraron 16 microRNAs sobreexpresados en muestras de sueros de 86 pacientes con CG. Después

de las pruebas de validación propusieron a miR-221, miR-376c y miR-744 como posibles biomarcadores. Saliminejad *et al.* (2022) sugirieron un panel de miR18a/21/125b circulante como un biomarcador potencial para la detección temprana de GC. Al realizar el análisis de 21 estudios realizados en muestras de plasma y suero de pacientes con CG en diferentes poblaciones, Wang R. y colaboradores

microRNA	Muestra	Perfil de expresión	Blancos moleculares	Datos experimentales	Función
miR-17, miR-18a/b, miR-20b, miR- 340, miR-421, miR-658 y miR-17-5p	Tejido con CG, suero y plasma	Sobreexpresado	Rb, PTEN	Aumenta la tumorigenicidad	Oncogén
miR-19a	Tejido con CG, suero y plasma	Sobreexpresado	Rb, PTEN, SOCS1	Aumenta la tumorigenicidad y aumenta la proliferación celular	Oncogén
miR-17-5p	Tejido con CG, suero y plasma	Sobreexpresado	-	Aumenta la tumorigenicidad	Oncogén
miR-21	Tejido con CG, línea celular, suero, plasma y jugo gástrico	Sobreexpresado	RB, PTEN, PDCD4, TPM1,BTG2	Promotor de tumor, invasión,metástasis, inhibición de apoptosis, diagnóstico y mal pronóstico	Oncogén
miR-106 a/b	Tejido con CG, suero, plasma y jugo gástrico	Sobreexpresado	Rb, PTEN, Fas	Inhibición de apoptosis, diagnóstico y mal pronóstico	Oncogén
Familia let-7	Tejido con CG, línea celular, suero y plasma	Subexpresado	RAS, HMGA2, MYH9	Inhibición de la proliferacióncelular, progresión del ciclo celular, invasión, metástasis y pronóstico.	Supresor de tumores
miR-375	Tejido con CG, línea celular, suero y plasma	Subexpresado	JAK2	Inhibe la proliferación celular,induce apoptosis y diagnóstico	Supresor de tumores

CG: cáncer gástrico.

Tabla 1. microRNAs con función oncogénica y supresora de tumor en plasma, suero y tejidos con cáncer gástrico.

propusieron diferentes microRNAs como probables biomarcadores. Además, al evaluar la especificidad y sensibilidad de los ensayos concluyeron que los microRNAs circulantes en plasma representaban un buen blanco de detección en diferentes tipos de cánceres gastrointestinales, y que los ensayos de microRNAs basados en plasmas mostraban una mayor precisión comparando con aquellos ensayos realizados en sueros (Wang R. *et al.*, 2014) (Tabla 2).

microRNAs	Localización	Número de casos/controles	Edad promedio (años)
miR-106b, -20a, -221	China	90/90	46.2/46.1
miR-122, -192	China	36/36	56/59
miR-451, -486	Japón	56/30	66/ND
miR-223, -21, -218	China	60/60	54/51
miR-199a-3p, -151-5p	China	180/80	58.1/58.9
miR-27a, -181b	China	46/21	58.8/57
miR-203, -146b-5p, -192	América	10/30	55.8/51.9
miR-106b	Japón	69/30	ND/ND
miR-200c	España	52/15	65.9/65.3
miR-16, -25, -92a, -451, -468-5p	China	40/40	53.8/53.5
miR-191, -27a	China	48/27	61.2/55.4

ND: sin dato (Tomado y modificado de Wang R. *et al.,* 2014)

Tabla 2. microRNAs detectados en muestras de plasma de pacientes con cáncer gástrico propuestos como biomarcadores.

2.5 REDES DE INTERACCIÓN EN EL ESTUDIO DE microRNAs Y CÁNCER GÁSTRICO

El cáncer es un padecimiento heterogéneo y complejo con variación en los procesos celulares; incluso, entre tumores independientes. Por lo que, el establecimiento de vías que se encuentren afectadas en esta neoplasia es compleja, lo que ha llevado a la biología de sistemas para el establecimiento y análisis de interacciones (Prasasya *et al*., 2011).

Se sabe de la participación de los microRNAs en el CG (Bou *et al*., 2011; Feng *et al*., 2010; Ueda *et al*., 2010; Kim *et al*., 2009); sin embargo, las interacciones que se presentan entre microRNAs y sus RNAm blancos no se conocen detalladamente. Los microRNAs suelen tener más de un RNAm blanco y controlan diferentes procesos celulares (Munker & Calin, 2011; Volinia *et al*., 2006; Lu *et al.,* 2005). Por lo que, es necesario establecer redes de interacciones que permitan entender las alteraciones moleculares en este padecimiento.

Empleando herramientas bioinformáticas como la construcción de redes de interacción, se ha encontrado la participación activa de diversos microRNAs en procesos celulares en el CG, entre ellos la regulación de la proliferación tumoral y metástasis, donde diversos microRNAs se han encontrado interactuando entre ellos o controlando de manera cooperativa la expresión de diversos genes involucrados en la progresión de este padecimiento (Tseng *et al*., 2011), y la vinculación de microRNAs específicos en el desarrollo de la cascada precancerosa. Se reportó que la infección por *H. pylori* afecta la expresión del RNA no codificantes en múltiples niveles, como polimorfismos genéticos y vías de señalización, promoviendo o inhibiendo así la progresión tumoral o la quimiorresistencia (Wang C. *et al*., 2021).

Se han reportado diversos microRNAs que pueden tener un papel como marcadores para la detección temprana del CG empleando el plasma de pacientes. Sin embargo, a la fecha no se cuenta con un set universal de microRNAs que pudiera ser empleado para la detección del CG. Por lo anterior, se requiere continuar con las investigaciones y aterrizar los hallazgos dentro de la biología del cáncer de una manera coherente y plausible (Suárez-Arriaga *et al.,* 2017).

REFERENCIAS

URL 1. https://www.paho.org/es/campanas/dia-mundial-contra-cancer-2023-por-unos-cuidados-mas-justos#:~:text=A%20nivel%20mundial%2C%20se%20estima,las%20personas%20y%20a%20las%20comunidades. [Consulta: 6 de septiembre de 2023]

URL 2. https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-table?v=2020&mode=cancer&mode_population=continen ts&population=900&populations =900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=1&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17 &group_cancer=1&include_nmsc=0&include_nmsc_other=1 [Consulta: 4 de septiembre de 2023]

URL 3. https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-table?v=2020&mode=population&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=1&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&group_cancer=1&include_nmsc=0&include_nmsc_other=1 [Consulta: 4 de septiembre de 2023]

URL 4. Estadísticas a propósito del día mundialcontra el cáncer. https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2023/EAP_Cancer.pdf [Consulta: 6 de septiembre de 2023]

Arroyo-Rodríguez, A. B., Salloum-Asfar, S. (2013**). MicroRNAs Circulantes: ¿Nuevos biomarcadores en cancer?.** *Revista Eubacteria, 32*, 1-7. ISSN-1697-0071.

Bartel, D. P. (2004). **MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function**. *Cell*, *116*(2), 281–297. https://doi.org/10.1016/s0092-8674(04)00045-5

Bou Kheir, T., Futoma-Kazmierczak, E., Jacobsen, A., Krogh, A., Bardram, L., Hother, C., Grønbæk, K., Federspiel, B., Lund, A. H., & Friis-Hansen, L. (2011). **miR-449 inhibits cell proliferation and is down-regulated in gastric cancer**. *Molecular cancer*, *10*, 29. https://doi.org/10.1186/1476-4598-10-29

Calin, G. A., Sevignani, C., Dumitru, C. D., Hyslop, T., Noch, E., Yendamuri, S., Shimizu, M., Rattan, S., Bullrich, F., Negrini, M., & Croce, C. M. (2004). **Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers**. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*(9), 2999–3004. https://doi.org/10.1073/pnas.0307323101

Creemers, E. E., Tijsen, A. J., & Pinto, Y. M. (2012). **Circulating microRNAs: novel biomarkers and extracellular communicators in cardiovascular disease?**. *Circulation research*, *110*(3), 483–495. https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.111.247452

Espejo Romero, H., & Navarrete Siancas, J. (2003). **Clasificación de los adenocarcinomas de estómago [Classification of stomach adenocarcinomas]**. *Revista de gastroenterologia del Peru : organo oficial de la Sociedad de Gastroenterologia del Peru*, *23*(3), 199–212.

Feng, R., Chen, X., Yu, Y., Su, L., Yu, B., Li, J., Cai, Q., Yan, M., Liu, B., & Zhu, Z. (2010). **miR-126 functions as a tumour suppressor in human gastric cancer**. *Cancer letters*, *298*(1), 50–63. https://doi.org/10.1016/j.canlet.2010.06.004

Gorur, A., Balci Fidanci, S., Dogruer Unal, N., Ayaz, L., Akbayir, S., Yildirim Yaroglu, H., Dirlik, M., Serin, M. S., & Tamer, L. (2013). **Determination of plasma microRNA for early detection of gastric cancer**. *Molecular biology reports*, *40*(3), 2091–2096. https://doi.org/10.1007/s11033-012-2267-7

Guo, S. L., Peng, Z., Yang, X., Fan, K. J., Ye, H., Li, Z. H., Wang, Y., Xu, X. L., Li, J., Wang, Y. L., Teng, Y., & Yang, X. (2011). **miR-148a promoted cell proliferation by targeting p27 in gastric cancer cells**. *International journal of biological sciences*, *7*(5), 567–574. https://doi.org/10.7150/ijbs.7.567

Ha, M., & Kim, V. N. (2014). **Regulation of microRNA biogenesis**. *Nature reviews. Molecular cell biology*, *15*(8), 509–524. https://doi.org/10.1038/nrm3838

Jansson, M. D., & Lund, A. H. (2012). **MicroRNA and cancer**. *Molecular oncology*, *6*(6), 590–610. https://doi.org/10.1016/j.molonc.2012.09.006

Kim, Y. K., Yu, J., Han, T. S., Park, S. Y., Namkoong, B., Kim, D. H., Hur, K., Yoo, M. W., Lee, H. J., Yang, H. K., & Kim, V. N. (2009). **Functional links between clustered microRNAs: suppression of cell-cycle inhibitors by microRNA clusters in gastric cancer**. *Nucleic acids research*, *37*(5), 1672–1681. https://doi.org/10.1093/nar/gkp002

Laurent, P. (1965). **The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. an attempt at a histo-clinical classification**. *Acta Pathologica et microbiologica Scandinavica*, *64*, 31–49. https://doi.org/10.1111/apm.1965.64.1.31

Li, B. S., Zhao, Y. L., Guo, G., Li, W., Zhu, E. D., Luo, X., Mao, X. H., Zou, Q. M., Yu, P. W., Zuo, Q. F., Li, N., Tang, B., Liu, K. Y., & Xiao, B. (2012). **Plasma microRNAs, miR-223, miR-21 and miR-218, as novel potential biomarkers for gastric cancer detection**. *PloS one*, *7*(7), e41629. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041629

Lu, J., Getz, G., Miska, E. A., Alvarez-Saavedra, E., Lamb, J., Peck, D., Sweet-Cordero, A., Ebert, B. L., Mak, R. H., Ferrando, A. A., Downing, J. R., Jacks, T., Horvitz, H. R., & Golub, T. R. (2005). **MicroRNA expression profiles classify human cancers**. *Nature*, *435*(7043), 834–838. https://doi.org/10.1038/nature03702

Lugo-Trampe, Á., & Trujillo-Murillo, KDC. (2009): **MicroRNAs: reguladores clave de la expresión génica**. *Med Univ 11*(44): 187–192.

McLean, M. H., & El-Omar, E. M. (2014). **Genetics of gastric cancer**. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, *11*(11), 664–674. https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.143

Mitchell, P. S., Parkin, R. K., Kroh, E. M., Fritz, B. R., Wyman, S. K., Pogosova-Agadjanyan, E. L., Peterson, A., Noteboom, J., O'Briant, K. C., Allen, A., Lin, D. W., Urban, N., Drescher, C. W., Knudsen, B. S., Stirewalt, D. L., Gentleman, R., Vessella, R. L., Nelson, P. S., Martin, D. B., & Tewari, M. (2008). **Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection**. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(30), 10513–10518. https://doi.org/10.1073/pnas.0804549105

Munker, R., & Calin, G. A. (2011**). MicroRNA profiling in cancer**. *Clinical science (London, England: 1979)*, *121*(4), 141–158. https://doi.org/10.1042/CS20110005

Nagini, S. (2012). Carcinoma of the stomach: **A review of epidemiology, pathogenesis, molecular genetics, and chemoprevention**. *World journal of gastrointestinal oncology*, *4*(7), 156–169. https://doi.org/10.4251/wjgo.v4.i7.156

Otsubo, T., Akiyama, Y., Hashimoto, Y., Shimada, S., Goto, K., & Yuasa, Y. (2011). **MicroRNA-126 inhibits SOX2 expression and contributes to gastric carcinogenesis**. *PloS one*, *6*(1), e16617. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016617

Piazuelo, M. B., Epplein, M., & Correa, P. (2010). **Gastric cancer: an infectious disease**. *Infectious disease clinics of North America*, *24*(4), 853–vii. https://doi.org/10.1016/j.idc.2010.07.010

Prasasya, R. D., Tian, D., & Kreeger, P. K. (2011). **Analysis of cancer signaling networks by systems biology to develop therapies**. *Seminars in cancer biology*, *21*(3), 200–206. https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2011.04.001

Saliminejad, K., Mahmoodzadeh, H., Soleymani Fard, S., Yaghmaie, M., Khorram Khorshid, H. R., Mousavi, S. A., Vaezi, M., & Ghaffari, S. H. (2022). **A Panel of Circulating microRNAs as a Potential Biomarker for the Early Detection of Gastric Cancer**. *Avicenna journal of medical biotechnology*, *14*(4), 278–286.

Song, M. Y., Pan, K. F., Su, H. J., Zhang, L., Ma, J. L., Li, J. Y., Yuasa, Y., Kang, D., Kim, Y. S., & You, W. C. (2012). **Identification of serum microRNAs as novel non-invasive biomarkers for early detection of gastric cancer**. *PloS one*, *7*(3), e33608. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033608

Suárez-Arriaga, M. C., Torres, J., Camorlinga-Ponce, M., Gómez-Delgado, A., Piña-Sánchez, P., Valdez-Salazar, H. A., Ribas-Aparicio, R. M., Fuentes-Pananá, E. M., & Ruiz-Tachiquín, M. E. (2017). **A proposed method for the relative quantification of levels of circulating microRNAs in the plasma of gastric cancer patients**. *Oncology letters, 13*(5), 3109–3117. https://doi.org/10.3892/ol.2017.5816

Tseng, C. W., Lin, C. C., Chen, C. N., Huang, H. C., & Juan, H. F. (2011). **Integrative network analysis reveals active microRNAs and their functions in gastric cancer**. *BMC systems biology*, *5*, 99. https://doi.org/10.1186/1752-0509-5-99

Ueda, T., Volinia, S., Okumura, H., Shimizu, M., Taccioli, C., Rossi, S., Alder, H., Liu, C. G., Oue, N., Yasui, W., Yoshida, K., Sasaki, H., Nomura, S., Seto, Y., Kaminishi, M., Calin, G. A., & Croce, C. M. (2010). **Relation between microRNA expression and progression and prognosis of gastric cancer: a microRNA expression analysis**. *The Lancet. Oncology*, *11*(2), 136–146. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(09)70343-2

Volinia, S., Calin, G. A., Liu, C. G., Ambs, S., Cimmino, A., Petrocca, F., Visone, R., Iorio, M., Roldo, C., Ferracin, M., Prueitt, R. L., Yanaihara, N., Lanza, G., Scarpa, A., Vecchione, A., Negrini, M., Harris, C. C., & Croce, C. M. (2006). **A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets**. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *103*(7), 2257–2261. https://doi.org/10.1073/pnas.0510565103

Wang, J., Du, Y., Liu, X., Cho, W. C., & Yang, Y. (2015). **MicroRNAs as Regulator of Signaling Networks in Metastatic Colon Cancer**. *BioMed research international*, *2015*, 823620,1-12 https://doi.org/10.1155/2015/823620

Wang, C., Hu, Y., Yang, H., Wang, S., Zhou, B., Bao, Y., Huang, Y., Luo, Q., Yang, C., Xie, X., & Yang, S. (2021). **Function of Non-coding RNA in Helicobacter pylori-Infected Gastric Cancer**. Frontiers in molecular biosciences, 8, 649105. https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.649105

Wang, R., Wen, H., Xu, Y., Chen, Q., Luo, Y., Lin, Y., Luo, Y., & Xu, A. (2014). **Circulating microRNAs as a novel class of diagnostic biomarkers in gastrointestinal tumors detection: a meta-analysis based on 42 articles**. *PloS one*, *9*(11), e113401. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113401 (Retraction published PLoS One. 2021 Apr 29;16(4): e0251146)

Xia, L., Zhang, D., Du, R., Pan, Y., Zhao, L., Sun, S., Hong, L., Liu, J., & Fan, D. (2008). **miR-15b and miR-16 modulate multidrug resistance by targeting BCL2 in human gastric cancer cells**. *International journal of cancer*, *123*(2), 372–379. https://doi.org/10.1002/ijc.23501

Zhang, X., Nie, Y., Du, Y., Cao, J., Shen, B., & Li, Y. (2012). **MicroRNA-181a promotes gastric cancer by negatively regulating tumor suppressor KLF6**. *Tumour biology: the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, *33*(5), 1589–1597. https://doi.org/10.1007/s13277-012-0414-3

Zhu, W., Shan, X., Wang, T., Shu, Y., & Liu, P. (2010). **miR-181b modulates multidrug resistance by targeting BCL2 in human cancer cell lines**. *International journal of cancer*, *127*(11), 2520–2529. https://doi.org/10.1002/ijc.25260

Bacillus mojavensis: PRODUCTOR DE BIOSURFACTANTES CON ACTIVIDAD *CONTRA Colletotrichum* gloeosporioides Penz & Sacc var. Minor Simmonds

Data de aceite: 02/10/2023

Tomás Joel López Gutiérrez
Profesor de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas en la Universidad Autónoma de Campeche, Campeche.

Betty Sarabia Alcocer
Profesora de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas en la Universidad Autónoma de Campeche, Campeche

Baldemar Aké Canch
Profesor de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas en la Universidad Autónoma de Campeche, Campeche.

Eduardo Jahir Gutiérrez Alcántara
Profesor de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas en la Universidad Autónoma de Campeche, Campeche

Román Pérez Balan
Profesor de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas en la Universidad Autónoma de Campeche, Campeche

RESUMEN—El objetivo de este trabajo fue obtener los biosurfactantes de naturaleza lipopeptídica producidos por la bacteria *Bacillus mojavensis* y determinar la actividad antifúngica contra *Colletotrichum gloeosporioides* Penz & Sacc var. minor Simmonds. El extracto crudo en presencia de 10^3 conidios/mL del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* no presentó inhibición, pero el extracto semipurificado obtenido con sulfato de amonio alcanzó una concentración mínima inhibitoria de 12.5 *µ*g/mL. En conclusión, el método óptimo para la extracción del biosurfactante fue el sulfato de amonio al 40% siendo el metanol un solvente adecuado para semipurificar y obtener una concentración mínima inhibitoria de 25 *µ*g/mL contra *C. gloeosporioides.*

PALABRAS CLAVE—biosurfactantes, lipopéptidos, *Bacillus mojavensis*, *Colletotrichum gloeosporioides.*

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos marinos han desarrollado capacidades metabólicas y fisiológicas particulares para adaptarse a hábitats extremos y en respuesta producen metabolitos que generalmente no se expresan en los microorganismos de origen terrestre. Por tal motivo, el hábitat marino es una fuente potencial para la búsqueda de nuevos compuestos como antibióticos,

antioxidantes, bioemulsificantes, biosurfactantes, enzimas, fármacos, surfactantes aniónicos, vitaminas y otros compuestos de importancia comercial (Sarubbo et al 2022 y Satpute et al., 2010). Los surfactantes sintéticos han generado, en el 2008, un crecimiento en el mercado de 13 millones de toneladas a nivel mundial equivalente a 23.9 billones de dólares, en tanto que en el 2009 aumentó un 2 % y se espera que para el 2025 aumente del 3 al 5 % más (Mordor 2022 y Reznick et al., 2010). Sin embargo, estos surfactantes son derivados del petróleo, por lo que existe un gran interés en la búsqueda y aplicación de compuestos marinos bioactivos ,como los biosurfactantes, que son de gran importancia, debido a su diversidad estructural y funcional así como sus múltiples propiedades, tales como su actividad antimicrobiana y antiviral, agentes de biocontrol de enfermedades de plantas, alta biodegradabilidad y selectividad, baja toxicidad, compatibilidad con el medio ambiente, detergencia, dispersión, emulsificación, específicos en condiciones de altas temperaturas, pH y salinidad, formación de espuma, humectación y solubilización de compuestos hidrófobos. (Nawazish 2022, Perfumo et al., 2010, Tapati y Dabashis, 2022,). Otra ventaja que presentan los biosurfactantes es que son obtenidos mediante procesos de fermentación microbiana, donde se pueden utilizar sustratos económicos y controlar las condiciones de cultivo (Desai y Banat, 1997).

Los biosurfactantes, producidos por una amplia variedad de microorganismos se clasifican por su composición química en: a) compuestos de alto peso molecular constituidos por polisacáridos, lipopolisacáridos, lipoproteínas, entre otros y b) compuestos de bajo peso molecular como los glicolípidos, polipéptidos, lipopéptidos, entre otros (Ekambaram et al 2022; Smyth et al., 2010). Los lipopéptidos producidos por el género Bacillus han sido estudiados por el amplio espectro de actividad antimicrobiana, y especialmente por su actividad antifúngica (Banat et al., 2010). Este es el caso de los lipopéptidos pertenecientes a la familia de las iturinas que presentan notable actividad hemolítica y antifúngica in vitro. Por otra parte, las fengicinas aunque no poseen alta actividad hemolítica como las surfactinas e iturinas, si presentan una buena actividad antifúngica (Ongena y Jacques, 2007).

Por tal motivo el objetivo de este trabajo fue determinar la actividad antifúngica contra *Colletotrichum gloeosporioides* Penz & Sacc var. minor Simmonds del o los lipopéptido (s) aislado(s) y purificado(s) del cultivo de la bacteria marina *Bacillus mojavensis* (MC3B-22).

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

Microorganismo

La cepa antagonista B. mojavensis (MC3B-22) utilizada en este trabajo, se encuentra conservada en ultracongelación a –80°C en la Colección de Cultivos Microbianos Ambientales (CCMA) del Departamento de Microbiología Ambiental y Biotecnología (DEMAB).

Medio y condiciones de cultivo

Se realizó un pre-cultivo de 24 horas de la cepa B. mojavensis (MC3B-22) en caldo Luria Bertani Miller (Fluka) suplementado sales marinas (Sigma) (LBMSM) a 25°C, 140 rpm y luz constante. Transcurrido el tiempo, el pre-cultivo se ajustó a una densidad óptica (DO) de 3 a 520 nm. Diez mililitros del pre-cultivo, previamente ajustado, fue inoculado en matraces Erlenmeyer blafeados conteniendo el caldo Luria Bertani Miller. Las condiciones que se establecieron para el cultivo fueron las mismas que se usaron para la realización del pre-inóculo. El tiempo de fermentación para la obtención máxima del extracto crudo fue de 84 horas. Posteriormente, se procedió a obtener el sobrenadante libre de células (SLC) mediante centrifugación (Ultracentrifuga Eppendorf 5810-R) del medio de cultivo a 4000 rpm a 4°C y se filtró con membranas Millipore de 0.45 µm (Durán, 2010).

Métodos de extracción del biosurfactante

Extracción ácida: el SLC fue ajustado a un pH ácido con HCl 6 M y se dejó reposar toda la noche a 4°C para la precipitación completa del biosurfactante. Posteriormente, se centrifugó a 4000 rpm durante 45 minutos a 4°C y se colectó el precipitado. El precipitado se resuspendió en agua basificada para después ser congelado y liofilizado (Labconco). Se obtuvo el rendimiento con respecto al volumen del medio y se expresó en gr/L.

Extracción con sulfato de amonio: El SLC enfriado a (4-5°C) y en agitación lenta se le agregó sulfato de amonio, hasta obtener una concentración final del 40%. La extracción se mantuvo en refrigeración y agitación durante toda la noche. Horas después se centrifugó a 4000 rpm durante 3 minutos y el paquete se suspendió en 5 mL de agua, fue congelado y liofilizado. Se estimó el rendimiento con respecto al volumen del medio y se expresó en g/L.

Semipurificación de los extractos crudos

A una parte de los extractos crudos obtenidos de los diferentes métodos de extracción se le agregó metanol puro y la fracción metanólica obtenida fue transferida a otro vial, previamente pesado, para determinar el rendimiento de los extractos semipurificados.

Ensayo de la actividad biosurfactante: técnica de la gota colapsada (GC).

Tres tapas de microplacas de poliestireno (12.7 x 8.5 cm) de 96 micropozos fueron lavadas tres veces con agua caliente, etanol 96% y agua destilada, y se dejaron secar. Posteriormente a cada placa se le depositó 2 μL de aceite mineral y se dejó reposar durante 24 horas con la finalidad de que el aceite se expanda de manera homogénea sobre la superficie de los pozos. Transcurrido el tiempo de estabilización, se añadieron 5 μL de los extractos crudos y semipurificados a una concentración de 1mg/100 μL, control positivo dodecil sulfato de sodio (SDS) a 1.84 mg/mL y control negativo DMSO-SS (50/50 v/v). El ensayo se realizó tres veces por quintuplicado. Se observó en las microplacas después de un minuto de aplicar los extractos, la forma y el tamaño de la gota, la cual se midió con un vernier al microscopio estereoscopio. El aumento de la gota mayor a 1 mm con respecto al

control negativo se consideró con actividad biosurfactante (Youssef et al., 2004).

Purificación del extracto semipurificado mediante cromatografía de capa fina Preparativa

El extracto semipurificado se disolvió en metanol hasta obtener una concentración del 5% y se aplicó 250 μL en toda la placa. La placa se eluyó con el sistema nBuOH:MeOH:H_2O (3:2:1), se dejó secar y posteriormente se raspó la sílica gel en la zona del Rf donde se observó actividad hemolítica. Todo el raspado se depositó en un vaso de precipitado con 50 mL de cloroformo: metanol ($CHCl_3$:MeOH), 2:1, y se dejó en agitación en este sistema de disolventes para la extracción de los metabolitos de la sílica. La mezcla se filtró para separar la sílica y el solvente se concentró a presión reducida con rotaevaporador. El exceso del solvente se dejó secar y se determinó su rendimiento que se expresó en mg/mL (Satpute et al., 2010).

Determinación de la concentración mínima inhibitoria por el método de microdilución

Para este ensayo se obtuvo una suspensión de conidios a 3.5 X 10^5 conidios/mL de *C. gloeosporioides* (ATCC 42374) en medio RPMI 1640 con L-glutamina, sin bicarbonato y suplementado con 165 mM de ácido 3-(n-morfolino)-propanosulfónico (MOPS) y se ajustó a pH 7.0. El ensayo se realizó en microplaca estéril de 96 pozos.

Las fracciones semipurificadas se disolvieron en DMSO-SS a una concentración final de 4 mg/mL. Fueron transferidos 10 μL (40 μg) al primer pozo que previamente contenía 190 μL del medio RPMI 1640, se mezcló cuidadosamente hasta obtener una suspensión homogénea y se transfirió 100 μL al siguiente pozo que contenía 100 μL del medio RPMI 1640, y así sucesivamente hasta el pozo 12. De esta manera, se obtuvieron las diluciones dobles seriadas. Después, todos los pozos se inocularon con 100 μL de la suspensión de conidios. El ensayo se realizó por triplicado y la microplaca se incubó a 25°C durante 48 horas.

RESULTADOS

En este trabajo de investigación se usaron 2 metodologías de extracción de biosurfactantes: extracción ácida y con sulfato de amonio. Estas técnicas permitieron establecer que la extracción con sulfato de amonio fue el que extrajo la mayor cantidad de biosurfactantes con un rendimiento de 3.1243 g/L en comparación con los métodos de precipitación ácida (0.3173 g/L)

La confirmación de la naturaleza surfactante de cada extracto se realizó mediante el ensayo de la gota colapsada observándose un incremento de la gota en los extractos semipurificados como se visualizan en la Figura 1 y hemólisis (Dehghan-Noudeh et al., 2005; Youssef et al., 2004).

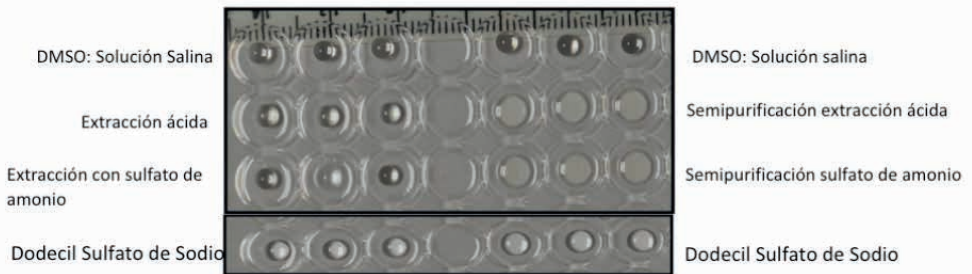



Figura 1 Actividad biosurfactante de los extractos crudos y semipurificados.

La determinación de los metabolitos activos se determinó mediante cromatografía de capa fina y bioautografía hemolítica esta metodología permitió localizar a las 12 horas de incubación el Rf que corresponde a las zonas con actividad hemolítica de los extractos. Simultáneamente a este ensayo, se corrió otra placa para revelar con ninhidrina la cual evidenció la presencia de péptidos, además de sulfato cúprico en ácido fosfórico para revelar la presencia de lípidos (Figura 2). De esta manera se pudo comparar, que la actividad hemolítica corresponde al mismo Rf, donde se revela la naturaleza lipopeptídica del biosurfactante de los extractos prepurificados.

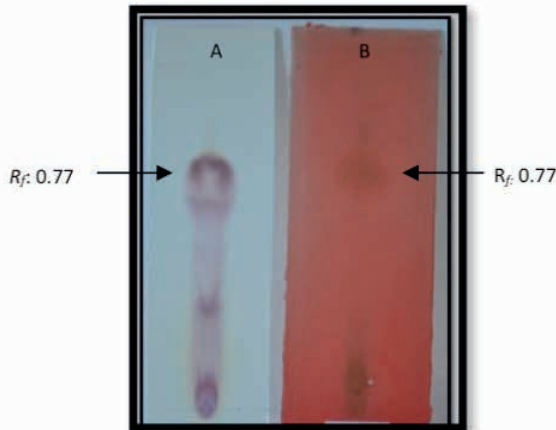



Figura 2 Selección de la zona para purificación por CCFP:(A) revelado con ninhidrina y (B) CCF-BH.

La determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y observación en microscopio invertido e interpretación mediante la escala numérica de la NCCLS mostraron los siguientes resultados: Ninguna de las concentraciones evaluadas del extracto TJSA inhibieron el crecimiento del hongo, por lo tanto, la CMI corresponde a un valor superior a 100 μg/mL. Estos valores altos pueden estar asociados a la presencia de impurezas presentes en el extracto crudo. Esto se hizo evidente cuando se evaluó el extracto crudo, ya que no se observó germinación de los conidios de *C. gloesoporioides* ATCC 42327 a una

concentración de 12.5 μg/mL. Estos resultados, demuestran la sensibilidad que presenta este patógeno contra este antifúngico.

Como conclusiones podemos mencionar que se determinó como método óptimo para la extracción del biosurfactante producido por la *B. mojavensis* fue el de precipitación con sulfato de amonio al 40%, el biosurfactante es de naturaleza lipopéptidica y el metanol resultó fue un adecuado solvente para la semipurificación ya que el lipopéptido se mantuvo en esta fracción aumentando la actividad hemolítica y antifúngica. Después de sucesivas purificaciones el rendimiento total obtenido mediante cromatografía de capa fina preparativa fue de 92.5 mg/Ly la concentración mínima inhibitoria del extracto purificado fue de 25 μg/mL contra *C. gloeosporioides.*

REFERENCIAS

Banat IM, Franzetti A, Gandolfi I, Bestetti G, Martinotti MG, Fracchia L, Smyth TJ, Marchant R (2010) Microbial biosurfactants production, applications and future potential. Applied Microbiology and Biotechnology, 87: 427-444.

Dehghan-Noudeh G, Housaindokht M, Fazly Bazzaz BS (2005) Isolation, characterization, and investigation of surface and hemolytic activities of a lipopeptide biosurfactante produced by Bacillus subtilis ATCC 6633. The Journal of Microbiology, 3: 272-276.

Desai JD, Banat IM (1997) Microbial production of surfactants and their commercial potential. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 61: 47-64.

Durán-Reyes D (2010) Evaluación y caracterización de un biosurfactante producido por Bacillus mojavensis con actividad antifúngica contra Colletotrichum gloeosporioides. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de Campeche. pp. 73.

Ekambaram G, Palanisamy P, Natchimuthu K, Sunita V, Mukesh K, Balasumbramani R (2022) Biosurfactants: potential and eco-friendly material for sustainable agriculture and environmental safety -a review.Agronomy, 12: 1-35.

Mordor Intelligence (Mercado de Surfactantes Especiales: crecimiento, tendencias, impacto de Covid 19 y pronósticos 2022-2027). https://www.mordorintelligence.com/es/industry-reports/specialty-surfactants-market.

Nawazish A, Zhengjun P, Fenghuan W, Baocai X, Hesham R (2022). Lipopeptide biosurfactants from Bacillus spp: yypes, production, biological activities, and applications in food. Journal of Food Quality, 2022:1-19.

Ongena M, Jacques P (2007) Bacillus lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. Trends in Microbiology, 16: 115-125.

Perfumo A, Smyth TJP, Marchant R, Banat IM (2010) Production and roles of a biosurfactant and bioemulsifiers in accessing hydrophobic substrates En: Timmis KN, (Ed), Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Northern Ireland, UK, pp. 1502-1512.

Reznik GO, Vishwanath P, Pynn MA, Sitnik JM, Todd JJ, Wu J, Jiang Y, Keenan BG, Castle AB, Haskell RF, Smith TF, Somasundaran P, Jarrell KA (2010) Use of sustainable chemistry to produce an acyl amino acid surfactant. Applied Microbiology and Biotechnology, 86: 1387-1397.

Sarubbo LA, Silva M de G, Durval IJ, Bezerra KG, Ribeiro B, Silva I, Twigg MS, Banat IM (2022) Biosurfactants: production, properties, applications, rends, and general perspectives. Biochemical Engineering Journal, 181. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bej.2022.108377.

Satpute SK, Banat IM, Dhakephalkar PK, Banpurkar AG, Chopade BA (2010) Biosurfactants, bioemulsifiers and exopolysaccharides from marine microorganisms. Biotechnology Advances, 28: 436-450.

Smyth TJP, Perfumo A, McClean S, Marchant R, Banat IM (2010) Isolation an analysis of lipopeptides and high molecular weight biosurfactants. En: Timmis KN, (Ed), Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Northern Ireland, UK, pp. 3689-3703.

Tapati M, Debashis B (2022) Biosurfactants: the potential green surfactants in the 21st century. Journal of Advanced Scientific Research, 13: 97-106.

Youssef NH, Duncan KE, Nagle DP, Savage KN, Knapp RM, McInerney MJ (2004) Comparison of methods to detect biosurfactant production by diverse microorganisms. Journal of Microbiological Methods, 56: 339-347

CAPÍTULO 3

CONTRIBUCIÓN A LA BIOLOGÍA DE *Sarda chiliensis chiliensis* (CUVIER, 1832), PARA EL DESARROLLO DE LA ACUICULTURA EN EL NORTE DE CHILE

Data de aceite: 02/10/2023

Renzo Pepe-Victoriano
Universidad Arturo Prat, Facultad de Recursos Naturales Renovables, Área de Biología Marina y Acuicultura. Iquique – Chile orcid.org/0000-0002-7630-1411

RESUMEN: La viabilidad biológica del cultivo de cualquier especie marina comienza con el establecimiento de una población reproductora inicial para obtener huevos, larvas y juveniles. Los peces fueron capturados en estado salvaje y acondicionados al cautiverio durante más de 1 año en un sistema de recirculación acuícola terrestre marina de 75 m^3. A los 14 meses bajo cautiverio, los peces comenzaron a desovar. Se recogieron huevos, para describir algunas fases de desarrollo, estos se colocaron en incubadoras a 20 ºC, y al tercer día eclosionaron los huevos de tipo telolecitos translúcidos, tiempo comparativamente más largo que el registrado para el bonito del Atlántico *Sarda sarda* y el bonito del Pacífico oriental *Sarda chiliensis lineolata*. Por último, y de acuerdo con las características morfológicas y morfométricas de las larvas observadas, en esta investigación se describieron seis estadios postembrionarios: estadios larvarios 1 a 4, prejuvenil y juvenil. Cabe mencionar que estos son los primeros trabajos que describe: a) la captura, transporte y aclimatación en cautiverio de una población reproductiva de bonito del Pacífico silvestre en Chile b) desarrollo embrionario realizados con huevos desovados de forma natural de *Sarda chiliensis chiliensis* y c) la determinación de los seis estadios larvarios del bonito del pacífico sur oriental.

PALABRAS CLAVE: Acondicionamiento, desove, embriología, larvas, bonito

CONTRIBUTION TO THE BIOLOGY OF *Sarda chiliensis chiliensis* (CUVIER, 1832), FOR THE DEVELOPMENT OF OF AQUACULTURE IN NORTHERN CHILE

ABSTRACT: The biological viability of culture of any marine species begins with the establishment of an initial broodstock to obtain eggs, larvae and juveniles. The fish were wild-caught and conditioned to captivity for over 1 year in a 75 m3 marine terrestrial aquaculture recirculation system. At 14 months in captivity, the fish began to spawn. Eggs were collected to describe

some developmental stages, placed in incubators at 20 ºC, and on the third day, translucent telolecists hatched, a comparatively longer time than that recorded for the Atlantic bonito Sarda sarda and the eastern Pacific bonito Sarda chiliensis lineolata. Finally, and according to the morphological and morphometric characteristics of the larvae observed, six post-embryonic stages were described in this research: larval stages 1 to 4, prejuvenile and juvenile. It is worth mentioning that these are the first works that describe: a) the capture, transport and acclimatization in captivity of a reproductive population of wild Pacific bonito in Chile b) embryonic development carried out with naturally spawned eggs of *Sarda chiliensis chiliensis* and c) the determination of the six larval stages of the southeastern Pacific bonito.
KEYWORDS: Conditioning, spawning, embryology, larvae, bonito.

PRIMERA PARTE: ANTECEDENTES GENERALES DE *Sarda chiliensis chiliensis*

INTRODUCCIÓN

La Acuicultura de peces marinos ha llamado considerablemente la atención de los países, principalmente latinoamericano, entregando un auspicioso panorama en las últimas décadas. Lo dicho anteriormente radica debido al desarrollo y optimización de la tecnología de cultivo en jaulas, así como también a las mejoras de los métodos de producción de juveniles, lo que ha multiplicado los cultivos de orientación comercial, debido al número de especies. A esto se suma el gran valor que posee el mercado mundial con los productos extraídos de especies marinas, particularmente de aquellas de carne blanca.

Los avances científicos a nivel mundial en los últimos 50 años, han permitido mejorar en gran medida los conocimientos acerca del funcionamiento de los ecosistemas acuáticos, así como la conciencia mundial de la necesidad de gestionarlos de forma sostenible (FAO, 2020).

Las ventajas que posee Chile comparativamente son numerosas en áreas de la acuicultura, respecto a otros países, particularmente, para el cultivo de especies marinas. Muchas universidades y empresas privadas a través de diferentes proyectos, proponen impulsar continuamente la cría de peces nativos marinos, con el objetivo de contribuir a nuevas oportunidades de negocio con un alto impacto potencial en términos económicos, orientado principalmente a la exportación de productos de alto valor, como también a generar oportunidades para fortalecer la actividad productiva del sector pesquero artesanal chileno, que se ha visto seriamente deteriorado en los últimos años, producto del colapso de las principales pesquerías. Desde esta perspectiva las diferentes investigaciones plasmadas en este capítulo, proponen un fuerte potencial de impacto social, que permitirá a entidades gubernamentales de nuestro territorio poder diversificar la acuicultura chilena.

La metodología de las investigaciones planteadas, están basada en antecedentes generales de la especie, además de información relativa al cultivo de peces marinos de características similares, como lo es para *Sarda sarda* principalmente realizada en España,

el cual a través de proyectos con atunes han podido desarrollar y conocer aún más esta especie. Un aporte importante consiste en la experiencia que posee Chile en la acuicultura, que brinda conocimientos avanzados para esta área, el cual facilita nuevas metodologías de trabajo en el desarrollo de nuevas especies a cultivar.

De esta forma, estas investigaciones, contribuirán a impulsar y fortalecer la diversificación de la acuicultura en la zona norte de Chile mediante el cultivo de una especie nativa como lo es *Sarda chiliensis chiliensis.*

DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE

Sarda chiliensis chiliensis (Fig. 1) se caracteriza por poseer un cuerpo esbelto y alargado, algo comprimido y moderadamente robusto (Méndez-Abarca & Pepe-Victoriano, 2020). Dientes de la mandíbula superior de 18 a 30, en mandíbula inferior de 14 a 25. Primera aleta dorsal con 17 a 19 espinas, aleta anal presenta de 12 a 15 radios y aleta pectoral de 22 a 26 radios (Arana, 2012). Cuerpo de color azul oscuro con brillos metálicos y con 5 a 9 franjas oscuras que se orientan de dorsal a ventral en forma oblicua. Al costado y en el vientre son plateados y tiene aletas dorsales, levemente separadas. El cuerpo está cubierto por pequeñas escamas de tipo cicloide, poco visibles, excepto en la región de la cabeza y el corselete. Por detrás de la segunda aleta dorsal y anal presenta pequeñas aletillas. El pedúnculo caudal es angosto, con dos pequeñas quillas a cada lado y además otra quilla mediana de mayor tamaño entre ellas a cada lado. Estos especímenes puede alcanzar un peso de 5,5 kg y una longitud de 1 m. Se caracteriza por tener una boca grande, con dientes cónicos, así como por sus ojos grandes y redondos (Mann, 1954). Los bonitos se desplazan en grandes cardúmenes y necesitan nadar continuamente dado que carecen de vejiga natatoria. (Chirichigno, 1980).

Figura 1.- Ejemplar de *Sarda chiliensis chiliensis* (Pepe-Victoriano *et al.,* 2021a)

El género *Sarda*, es miembro de la familia de *Scombridae*, es un pez de aguas templadas y tropicales, especie epipelágica nerítica, o sea, que vive en profundidades medias y nada formando grandes cardúmenes que se acercan a la costa sólo en primavera (Mann, 1954) actualmente ha tenido una variada aceptación en el mercado mundial.

NOMBRES LOCALES

Chile	: Bonito, Mono
España	: Bonito
Colombia	: Bonito
México	: Bonito
Perú	: Aguadito, Bonito, Cerrajón, Chaucha, Chauchilla, Monillo, Monito, Mono
Suiza	: Chilensk Boni
USA	: Pacific bonito
Rusia	: Chilijskaya pelamida, Vostochnaya pelamida

DISTRIBUCIÓN

Sarda chiliensis se encuentra solo en el pacífico este (Collette & Chao, 1975). Su alcance geográfico es separada en un Norte y en un Sur por una población tropical de *Sarda orientalis,* al norte la subespecie *Sarda Chiliensis lineolata* (Girard 1858) se encuentra a partir de las costas de Alaska (60°16´N,145° 32´W) hasta el sur de Cabo San Lucas en la punta de Baja California (22 °20´N, 112 ° 27´O) y en las islas Revillagigeo (Fig. 2). Al sur la subespecie *Sarda chiliensis chiliensis* está presente de Mancora, Perú, justo al sur del Golfo de Guayaquil hacia el sur, llegando hasta Talcahuano, Chile (Yoshida, 1980).

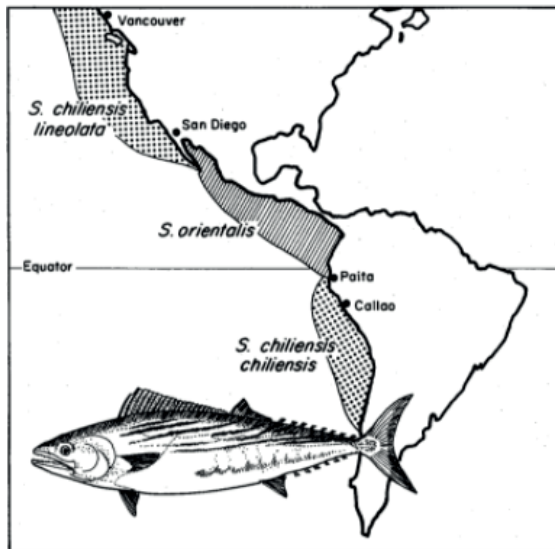



Figura 2.- Mapa de distribución *Sarda chiliensis chiliensis* (extraído de www.fao.org).

De este género se reconocen cuatro especies: *Sarda australis, Sarda chiliensis*,

Sarda orientalis y *Sarda sarda (Collette & Chao,* 1975).

ECOLOGÍA TRÓFICA

Los peces representan importantes depredadores en los ecosistemas acuáticos, ya que son capaces de alimentarse de la mayoría de las comunidades y de los recursos disponibles en el sistema (Vander-Zanden & Vadeboncoeur, 2002). Debido a que son organismos móviles con tiempos generacionales y tamaños corporales relativamente grandes, los peces suelen conectar a través de su alimentación zonas litorales, bentónicas y pelágicas (Jeppesen *et al*., 1997; Schindler & Scheurell, 2002; Pace *et al*., 2004) e incluso comunidades espacialmente distantes (Dolson *et al*., 2009; Massol *et al*., 2011). Asimismo, a través de la alimentación son capaces de provocar fuertes efectos en cascada sobre niveles tróficos inferiores (Carpenter & Kitchel, 1993; Lövgren & Persson, 2002). De esta manera, pueden afectar directa o indirectamente la mayoría de los componentes del ecosistema, acoplarlos y promover cambios en los ciclos de nutrientes y la dinámica energética (Polis & Strong, 1996; Motta & Uieda, 2005; Knight *et al*., 2005; 2006). En este contexto resulta fundamental conocer el rol de los peces en los ecosistemas acuáticos, particularmente considerando que muchas especies se están perdiendo en un alto número de ecosistemas (Olden *et al*., 2007). La caracterización de los hábitos alimentarios de la comunidad ictícola representa un abordaje básico para avanzar en la comprensión de su papel en la estructura y funcionamiento de la diversidad biológica (Winemiller, 1990).

El estudio de la ecología trófica es necesario para entender la biología y la ecología de los organismos, y el alimento es uno de los factores más importantes e influyentes (Wöhler & Sánchez 1994).

El estudio del contenido estomacal es una forma común de investigación de las cadenas alimentarias de una comunidad biológica marina (Berg, 1979), que permite obtener información valiosa acerca del rol de las especies dentro de un ecosistema (Heupel & Bennett, 1998), a través del conocimiento del tipo de especies que consumen, de sus preferencias y del efecto de sus hábitos alimentarios sobre el resto de la comunidad.

ALIMENTACIÓN

En Chile, las primeras investigaciones sobre la alimentación de peces se efectuaron en especies demersales, pelágicas, submareales, intermareales, etc., donde en su gran mayoría han sido dirigidas al conocimiento de las especies que son importantes en las pesquerías (Silva & Stuardo, 1985; Flores & Rojas, 1987; García & Chong, 2002; Medina & Arancibia, 2002).

Magnuson & Heytz (1971) examinaron los hábitos alimentarios de los peces escómbridos, señalando que existe selectividad, en término del tamaño del alimento. Sugieren que los predadores más grandes han reducido su capacidad para capturar

presas pequeñas (crustáceos), esto debido a una relativamente grande abertura entre las branquispinas. Entre los escómbridos del mismo tamaño, *Sarda chiliensis lineolata* y *Sarda orientalis* tienen la más grande abertura de branquias (1,8 – 3,3 mm).

Un estudio realizado a un total de 1.498 estómagos de *Sarda chiliensis lineolata,* fue efectuado por Pinkas (1971), mostrando claramente que la anchoveta del norte *Engraulis mordax*, fue el mayor componente (75,9 % en volumen) seguido por el calamar común, *Loligo opalescens* (18,0 % en volumen). El resto estuvo constituido por peces varios y unos pocos crustáceos.

Un estudio realizado por el instituto del mar del Perú (2007) concluye que la alimentación de *Sarda chiliensis chiliensis* en la zona del Callao-Perú, la ingesta de pejerrey, y en una menor proporción la anchoveta, se encuentran en ejemplares menores a 36 cm; a diferencia de los de mayor talla quienes se alimentaron fundamentalmente de anchovetas, durante el periodo de otoño-primavera.

Recientes estudios sobre la alimentación de *Sarda chiliensis chiliensis* realizadas en el norte de chile y sur del Perú, fueron los realizados por Medina & Araya (2019) y Pepe-Victoriano *et al*., (2022a) el cual este último, analizó un total de 1404 estómagos encontrando una predominancia de *Pleuroncodes monodon* y *Engraulis ringens,* concluyendo que podría ser una especie generalista.

PESCA Y PRODUCCIÓN

En California, el bonito del pacífico oriental es capturado comercialmente por los barcos pesqueros, pero mayormente por pesca de barcos privados, (Yoshida, 1980). A mediados de los años sesenta, la pesquería chilena del bonito, entre Iquique y Antofagasta se expandió, en una actividad casi totalmente artesanal con redes de mallas y de cerco flotante, pero es una forma pequeña para la operación industrial de bonito, donde Chile está especializado en la pesca de atún (Yoshida, 1980). Los desembarques de la subespecie del norte (*S. c. lineolata*) en California y México han fluctuado mucho en los últimos 50 años a partir de menos de 1.000 toneladas métricas a cerca de 14.000 t. en los años setenta, el ranking en el puesto número 13 (4.003 t un valor de $ 1.222.000 dólares) en el total de desembarques de California de 1976. Los desembarques del Perú de *Sarda chiliensis chiliensis*, aumentó de casi cero, en 1940 a un máximo de 110.000 toneladas anuales en los años sesenta, a partir de entonces fue disminuyendo hasta llegar a las 40.000 toneladas a mediados de los años setenta (Yoshida, 1980). Las captura en el mundo, para la especie se redujo entre 10.219 t en 1976 y 15.936 t en 1981, alcanzando 21.308 t en 1977 (Collette & Nauen, 1983).

En Chile, la captura de *Sarda chiliensis chiliensis* se realiza principalmente en el norte del país, en las regiones de Arica y Parinacota, Tarapacá y Antofagasta, abarcado casi el 95% de la captura total en el año 2020 (Fig. 3a) (SERNAPESCA, 2020). Durante el

mismo año solo en los meses de enero y diciembre no existe captura de esta especie (Fig. 3b).

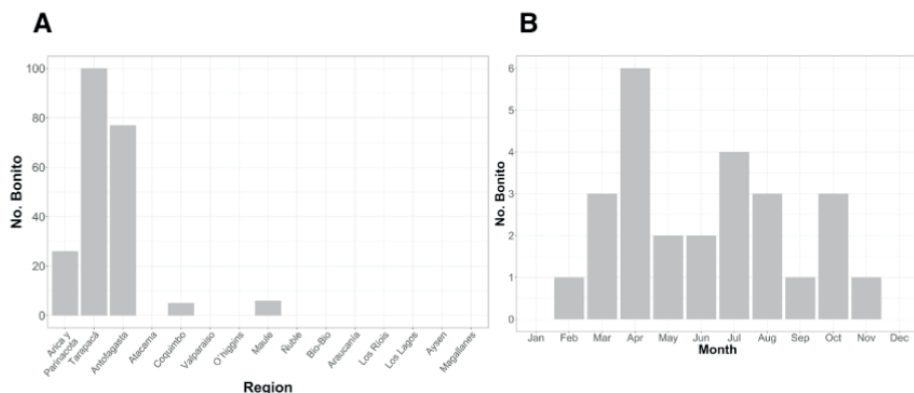



Figura 3.- Captura de *Sarda chiliensis chiliensis* en Chile.

A: Captura por región B: Captura por mes

(extraído de SERNAPESCA, 2020)

CAPTURA Y TRANSPORTE DE PECES MARINOS

Al comenzar un cultivo de peces se necesita de ejemplares para adaptarlos al cautiverio como potenciales reproductores, los cuales deben ser capturados del medio donde viven y así asegurar la continuidad del cultivo (Muñoz *et al*., 2012), en general, estos cultivos empiezan con la captura de juveniles (Botero & Ospina, 2002; Papandroulakis *et al.,* 2004; Belmonte *et al.,* **2007;** Grignon, 2010).

El cultivo de peces marinos nativos en Chile es un tema de la actualidad, dirigido principalmente a la investigación, donde se han capturado juveniles silvestres de *Merluccius australis* (merluza del sur)**,** *Cilus gilberti* (corvina), *Eleginops maclovinus* (róbalo), *Seriolella violácea* (Cojinoba) *Seriola lalandi* (Palometa), *Paralichthys adspersus* **(lenguado chileno),** *Oplegnathus insignis* (San Pedro), *Medialuna ancietae* (pez acha) y recientemente *Sarda chiliensis chiliensis* (Silva & Flores, 1989; Cortes *et al.,* 2001; Bustos & Landaeta, 2005; Pepe-Victoriano *et al*., 2022b).

El transporte de los juveniles (potenciales reproductores) deben tener características particulares para cada especie, pero uno de los patrones generales serian: baja densidad, peces pequeños, flujo de agua continuos en la embarcación y oxígeno permanente en el trasporte terrestre. Cumpliendo con estos requisitos podemos asegurar un transporte con un alto porcentaje de sobrevivencia (Pepe-Victoriano *et al*., 2022b)

HÁBITAT Y BIOLOGÍA

Especie epipelágica nerítica, de migración nictimeral. En aguas costeras el bonito

habita la capa superficial más temperada y salina del agua subantártica, en las aguas oceánicas se encuentra asociado al agua subtropical superficial, caracterizada por altas temperatura y salinidad. A diferencia de los adultos, los juveniles se encuentran generalmente más cerca de la costa. Durante los fenómenos climáticos que incrementan la temperatura del mar, se generan las condiciones apropiadas para que se presente en abundancia y más arriba de su promedio. Forma cardúmenes por tamaño.

CARACTERÍSTICAS DE REPRODUCCIÓN

Sarda chiliensis chiliensis alcanza su madurez sexual aproximadamente a los dos años de edad (Collette & Nauen, 1983).

En el hemisferio sur, el desove se produce en las aguas cercanas a la costa entre septiembre y diciembre. En el hemisferio norte, el desove se inicia a principios de marzo, las poblaciones del sur avanzan hacia el norte en los meses siguientes en función del aumento de la temperatura. La evidencia sugiere que incluso a un año de edad *S. chiliensis lineolata* se puede encontrar en las zonas de aguas frías influenciada por los vertidos térmicos (Collette & Nauen, 1983). En su mayoría, los bonitos maduran a principios de temporada y tienden a vivir más en la costa, en comparación con los peces más jóvenes. El desove es en lotes, y el número de huevos que aporta en una temporada por una muestra de 3 kg se ha estimado en alrededor de varios millones. La fecundidad aumenta exponencialmente con el tamaño (Collette & Nauen, 1983).

Las cuatro especies de *Sarda* son usualmente heterosexuales, no existiendo dimorfismo sexual entre machos y hembras. Tras investigaciones de Magnuson & Prescott (1966) para *S. chiliensis lineolata* en cautiverio, observaron un dimorfismo sexual a través de las características de comportamiento del bonito, constatando que unos eran “bamboleantes” (“wobblers”) y otros “seguidores” (“followers”). Determinando que los “bamboleantes” eran hembras y los “seguidores” eran machos, sin embargo, Vildoso (1960) en *S. chiliensis chiliensis* encuentra casos de hermafrodismo, en aguas peruanas.

En las costas de Chile las hembras de *S. chiliensis chiliensis* alcanzan inicialmente la madurez sexual a una longitud de 51 cm (Barrett, 1971). Para los bonitos del Perú, Vildoso (1960) determinó que la talla del primer desove está entre 47 y 53 cm Kuo (1970) estableció que en la población del Hemisferio Norte, la hembra alcanza la madurez sexual a 51 cm y que a esta longitud el pez tiene 5 años aproximadamente.

Aunque algunos patrones de comportamiento como la expulsión de gametos durante una natación en círculo hayan sido observados sólo en *S. chiliensis lineolata*, se espera que las otras especies de *Sarda* tengan el mismo comportamiento (Magnuson & Prescott, 1966).

La época de desove de *S. chiliensis chiliensis* en aguas chilenas comienza en septiembre y tiene su máximo en octubre y noviembre, finalizando antes de abril (Barrett,

1971). En el Perú es muy similar, con el máximo del desove extendido desde octubre hasta febrero (Vildoso, 1960).

La mayoría de las observaciones tienden a apoyar a Klawe (1961), quien, basado en las capturas de larvas y juveniles de *S. chiliensis*, ha establecido que el desove de esta especie tiene lugar en la estación más cálida frente a Baja California, Perú, y Norte de Chile.

COMPOSICIÓN NUTRICIONAL

A lo largo del mundo ha sido ampliamente reconocido que la pesca y la acuicultura nos entregan productos que constituyen alimento importante para el mundo entero, principalmente por su valioso aporte de nutrientes en la dieta humana (Chukwu & Mohammed, 2009) y se les considera como uno de los alimentos más completos por la calidad y cantidad de nutrimentos que aporta (Izquierdo *et al*., 2000). Es sabido que conforma una fuente muy alta de proteína, minerales y vitaminas esenciales de gran valor biológico (Astorga *et al*., 2007; Fuentes *et al*., 2009; Özden 2010a). Además, por su escaso contenido en grasas y calidad de ácidos grasos, muchos estudios reportan los efectos favorables del consumo de estos organismos para una mejor salud (Castro-González *et al*., 2007; Perea *et al*., 2008; **Özden** 2010b)

El bonito, se encuentra dentro del grupo de pescado azul, por lo que su contenido graso es elevado si lo comparamos con otros pescados, como los llamados magros. Posee unos 6 g de grasa por cada 100 g de porción comestible. Su grasa es rica en ácidos grasos omega-3, que contribuyen a disminuir los niveles de colesterol y de triglicéridos en la sangre, además de hacer la sangre más fluida, lo que rebaja el riesgo de formación de coágulos o trombos (Martín, 2018).

Además, esta especie, al igual que los otros peces, es una buena fuente de proteínas de muy alto valor biológico y posee cantidades variadas de vitaminas y minerales. Entre las vitaminas, se encuentran las del grupo B, como la B2 (más abundante en pescados azules) y la B9, aunque su contenido es menos relevante si se compara con otros alimentos ricos en estos nutrientes (hígado, levadura de cerveza, cereales integrales, legumbres). Respecto a otros pescados, el bonito tiene un contenido sobresaliente de vitamina B3 y B12, esta última muy superior a muchos pescados y carnes (Martín, 2018) (Tabla 1).

Energía (kcl)	138
Proteínas (gr)	21
Grasas (gr)	6
Hidratos de carbono (gr)	0
Hierro (mg)	1
Magnesio (mg)	28
Yodo (mg)	10
Calcio (mg)	35
Zinc (gr)	1
Colesterol (mg)	38
B2 o riboflavina (mg)	0,2
B3 o niacina (mg)	17,8
B9 o ácido fólico (mc g)	15
B12 (mcg)	5
Vitamina A (mcg)	40
Vitamina D (mcg)	20
Ácidos grasos saturados (gr)	1,2
Ácidos Grasos monoinsaturados (gr)	1,6
Ácidos grasos poliinsaturados (gr)	1,4

Tabla 1.- Composición nutricional por 100 g de porción comestible (extraído de Martín, 2018)

MEDIDAS DE REGULACIÓN

Para esta especie no existen medidas de regulación (veda, tamaño mínimo de extracción y cuota de captura), excepto, que no se puede destinar para harina de pescado.

SISTEMA DE PESCA

Esta especie es importante para la pesca recreativa con anzuelo y sedal que opera desde embarcaciones privadas, muelles, embarcaderos, y desde la costa. También se captura con redes de cerco por la flota industrial y red de enmalle por el sector artesanal.

UTILIZACIÓN PARA CONSUMO HUMANO

La carne del bonito es rica en aceites y posee una moderada cantidad de grasa, que se reduce al 6% en este pez, mientras que en el atún alcanza el 10%. Esta carne es cotizada principalmente en el mercado asiático, donde se comercializa en mayor medida

como congelado y conserva. En Perú además se consume asado y al horno (Frimodt, 1995).

En las pescaderías se suele presentar entero y eviscerado en rodajas. Se llama ventrescas a las piezas que se sacan de la zona ventral del pez. Se puede comercializar congelado en rodajas, aunque no es muy habitual ya que el pescado azul tiene un duración más corta congelado. Se puede encontrar descongelado en pescaderías, que lo venden luego al corte. Cuando se compra en rodajas, tiene poco desperdicio, sólo sobra la piel y la espina, que pueden suponer el 15-25% del peso. Un bonito entero presenta mucho desperdicio, ya que la cabeza es grande y en ese caso la parte comestible es sólo del 58%.

POSIBLE ACUMULACIÓN DE TÓXICOS

Son peces carnívoros, por lo que pueden acumular tóxicos como por ejemplo metales pesados. Por ello, se recomienda que las embarazadas y los niños no hagan un consumo abusivo de este tipo de pescados, aconsejando un consumo de tan sólo una vez por semana.

PARTE 2: CAPTURA, TRANSPORTE Y ACONDICIONAMIENTO DE REPRODUCTORES DE *Sarda chiliensis chiliensis*

INTRODUCCIÓN

Existen dos fuentes principales para la obtención de los reproductores, los peces cultivados o criados y los provenientes del medio natural con captura de ejemplares silvestres juveniles o adultos (Silva & Oliva, 2010), estos últimos (adultos) pueden sufrir daños dependiendo del arte de pesca, la manipulación y el traslado a los centros de cultivo, lo que se traduce en incertidumbre e inestabilidad de las capturas y el estrés para los peces, con consecuencias negativas, tales como inmunosupresión, enfermedades por patógenos primarios y/o secundarios, atresia gonadal, calidad de huevos, entre otros. Por lo que generalmente la captura de juveniles es lo ideal para el comienzo en el acondicionamiento de futuros reproductores de especies potencialmente interesantes para la acuicultura nacional (Muñoz *et al.*, 2012).

En el caso de los peces pelágicos, el aumento de la demanda de atunes ha incrementado el esfuerzo de la pesca, de tal manera que algunos de estas especies están en peligro de sobreexplotación, ejemplo de ésto es el atún de aleta amarilla *Thunnus albacares* y la albacora *Thunnus alalunga*, del pacífico sur (Skillman, 1975). Como consecuencia de lo anterior, la atención se ha dirigido a recursos atuneros relativamente subutilizados, como *Katsuwonus pelamis* (barrilete). Además, algunos de los atunes pequeño como los bonitos, del género *Sarda*, también han tenido una mayor atención (Yoshida, 1980).

Sin embargo, las pesquerías de bonito del Pacífico Sur están siguiendo la misma

tendencia de declive de las poblaciones silvestres, y a pesar de los años de explotación pesquera, sus antecedentes relacionados con sus etapas embrionarias de desarrollo temprano son lo suficientemente escasos como para poder establecer planes de gestión de la especie en su medio natural o para generar información de base para su cría en sistemas de cultivo acuícola (Pepe-Victoriano *et al.*, 2021b)

Es sabido que el éxito en la producción acuícola de cualquier especie implica el conocimiento de las características morfofisiológicas y de comportamiento de la especie en cultivo, siendo relevante el estudio entre el desarrollo embrionario y los primeros estadios juveniles (Gisbert *et al.*, 2002, 2004; Botta *et al.*, 2010; Azfar Ismail *et al.*, 2019; Syafiq *et al.*, 2020; Yoshinori *et al.*, 2020). La descripción del desarrollo embrionario en los peces permite numerosas ventajas, como herramientas para la correcta gestión de los recursos acuícolas y pesqueros (Conklin *et al.*, 2004; Pepe-Victoriano *et al.*, 2012; Marancik *et al.*, 2020), para la identificación precisa de los ciclos vitales (Oka *et al.*, 2020), y para el reconocimiento de embriones y larvas en entornos naturales (Davis *et al.*, 2020). Todo lo anterior permitirá una mejor evaluación de las condiciones ambientales de desove de los reproductores (Pepe-Victoriano *et al.*, 2013), así como generar artificialmente ambientes que puedan conducir a una crianza saludable de las larvas y, en consecuencia, a la cría de juveniles con excelentes índices de producción (Alves & Moura, 1992; Celik & Sukran, 2019).

CAPTURA Y TRANSPORTE

El estrés de la captura y la manipulación de los ejemplares pueden afectar los parámetros sanguíneos, el hipotálamo y la pituitaria, con las correspondientes afectaciones de los niveles de gonadotropina, esteroides y el cortisol en sangre (Harmon, 2009). En cuanto al sistema reproductivo se puede presentar: atresia de los ovocitos, huevos de menor tamaño, y en consecuencia disminución en los parámetros reproductivos (fertilización, eclosión y viabilidad de las larvas). De igual manera se pueden presentar ciertas afectaciones físicas, como descamaciones y pérdida del mucus, lo cual incrementa la probabilidad de infecciones que pueden llegar a provocar la muerte.

Se capturaron un total de 74 bonitos del Pacífico Sur (Fig. 4) a lo largo de 22 campañas entre noviembre de 2011 y enero de 2012, de los cuales 50 potenciales reproductores no sobrevivieron a las condiciones utilizadas durante su transporte en tanque en el buque. Las lesiones causadas por la captura y el traslado de los peces seleccionados fueron mínimas. Por consiguiente, no fue necesario ningún tratamiento con una solución terapéutica para evitar un posible aumento de la mortalidad por gestión.

El rango de supervivencia de los peces en el conjunto de las 22 campañas osciló entre el 0% y el 100%. No hubo correlación entre el número de peces transportados en el tanque (de 1 a 8 peces/m3) y la supervivencia de los peces. Por ejemplo, densidades de transporte de 1 pez/m3 dieron lugar a tasas de supervivencia del 0% al 100%; 2 peces/m^3

con supervivencias entre el 0% y el 60%; 3 peces/m^3 entre el 33,3% y el 66,7%; 4 peces/m^3 entre el 25% y el 75%; 5 peces/m^3 entre el 20% y el 60%; de 5 peces/m^3 entre el 20% y el 60%; de 6 peces/m^3 entre el 0% y el 33,3%. Un total del 42% de los peces capturados fueron descartados inmediatamente debido a los daños físicos causados por el arte de pesca, principalmente lesiones considerables en la boca y las branquias.

Las supervivencias de los peces capturados aumentaron a medida que la estacionalidad transitaba del final de la primavera al verano. Las tasas de supervivencia de las campañas de noviembre, diciembre y enero fueron del 18,1 ± 14,3%, 29,5 ± 15,3% y 75,4 ± 17,5%, respectivamente. Durante las campañas de pesca de bonito en el Pacífico Sur, la temperatura del agua de mar osciló entre 17,1 y 18,2 ºC.

La densidad de transporte de peces en un vehículo desde el muelle hasta el SRA en tierra para el cultivo y acondicionamiento de reproductores no excedió de 4 a 5 peces por tanque. El transporte de peces desde el muelle de desembarque hasta el sistema de acuicultura de recirculación en tierra (La Capilla, Arica) duró aproximadamente 5 h. No hubo mortalidades durante este transporte.

Figura 4. Captura de ejemplares de Bonito

RECEPCIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE REPRODUCTORES

Los ejemplares vivos de *Sarda chiliensis chiliensis* que fueron transferidos al tanque de crianza (Fig. 5) no fueron pesados para minimizar el estrés por manipulación y causar lesiones innecesarias. Hacia la cuarta semana, se observó que los primeros grupos de bonitos del Pacífico Sur repoblados empezaron a aceptar el alimento formulado comercialmente. El alimento fresco y seco diario representó hasta el 5,4% de su peso corporal, suponiendo un peso medio estimado de 1 kg para los 24 peces repoblados al final de la campaña de pesca.

Cuarenta y cinco días después de la última campaña de pesca, sólo dos peces (8,3%) murieron dentro del tanque de cría de reproductores. Al final del 13º mes en cautividad y un mes antes del primer desove natural, la mortalidad acumulada era de 11 individuos (45,8%). Los 11 peces muertos presentaban una sección abdominal comprimida,

y el examen post mortem de la zona estomacal de los peces mostró un estómago vacío.

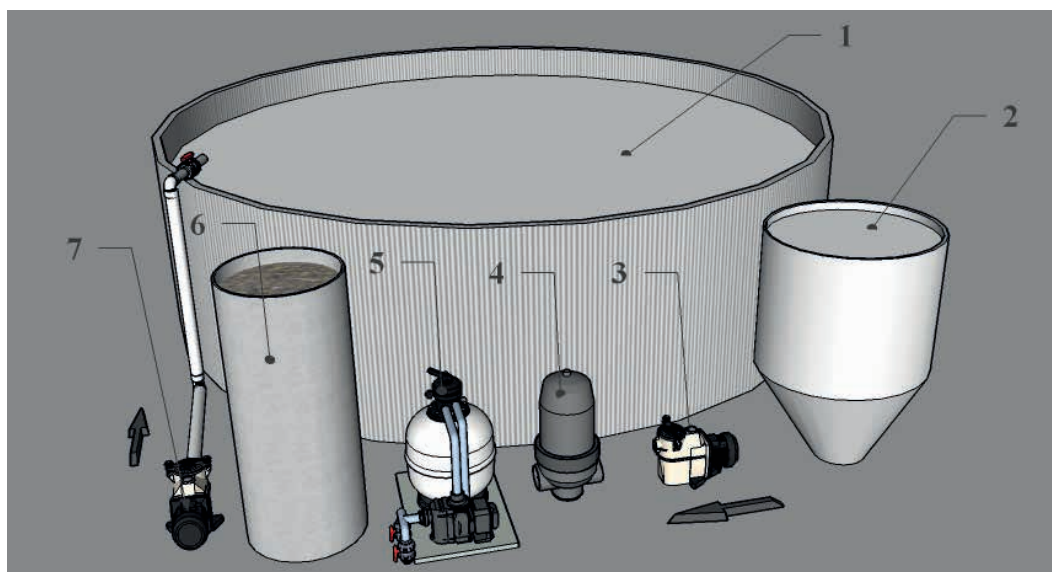



Figura 5. Esquema del sistema de recirculación terrestre para el acondicionamiento de reproductores de *Sarda chiliensis chiliensis*. 1. Tanque de cría de reproductores (60 m3). 2. 2. Tanque de almacenamiento de agua (5 m3). 3. Bomba de 1,5 CV. 4. Filtro de arena. 5. Filtro de anillas. 6. Tanque de biofiltración (5 m3). 7. Bomba de 1,5 CV

CONTROL DE LA CALIDAD DEL AGUA EN EL SAR

La temperatura media y las condiciones medias de oxígeno disuelto del agua del tanque de cría entre enero de 2012 y diciembre de 2012 fueron de 18,80 C (SD 2,306) y 6,10 mg L-1 (SD 0,361).

Las medias de amonio, nitrito, nitrato y pH en el estanque de cría entre enero de 2012 y diciembre de 2012 fueron 0,025 mg L-1 (SD 0,996); 0,018 mg L-1 (SD 0,888); 35 mg L-1 (SD 0,326) y 6,8.

PARTE 3: DESOVE Y DESARROLLO EMBRIONARIO DE *Sarda chiliensis chiliensis*

INTRODUCCIÓN

Se ha realizado un gran esfuerzo en acondicionar y mantener reproductores en cautiverio con vistas a producir la mejor calidad y cantidad de huevos, aunque todavía falta una estandarización de métodos de varias especies, que permitan asegurar determinadas cantidades de huevos de calidad (Pepe-Victoriano *et al*., 2021a) De todas formas, parece que la fase de larva en algunas especies es la que más problemas tiene, y aunque se han realizado pruebas larvales y de producción de juveniles en varias especies, éstas

requieren de continuidad y repetición, asĩ como investigaciones encaminadas a superar la baja supervivencia larval y/o el lento crecimiento de los juveniles.

DESOVE DE REPRODUCTORES

Los bonitos del Pacífico Sur capturados en estado salvaje desovaron casi 12 meses después de su repoblación en el tanque de cría acondicionado. El desove espontáneo de los peces, sin aplicación de inductores hormonales, comenzó a principios de enero de 2013 (verano en el hemisferio sur). El desove duró hasta principios de marzo (finales de verano) del mismo año, y se registraron al menos tres desoves semanales. El mayor número de huevos observado durante el periodo de desove se produjo en febrero de 2013. La longitud total estimada de los peces repoblados (noviembre de 2011 a enero de 2012) en el tanque de acondicionamiento fue de unos 36 cm, y a finales de marzo de 2013, era de aproximadamente 45 cm, lo que corresponde a un crecimiento estimado en peso de 0,6 kg a 1,2 kg, respectivamente.

El rango de temperatura del agua en el SRA de los reproductores, durante los eventos de desove natural, estuvo entre 18,6º C y 19,8º C en diciembre de 2012, entre 20,4º C y 21,2º C en enero de 2013, entre 21,5º C y 22,4º C en febrero de 2013, y entre 21,9º C y 22,9º C en marzo. La temperatura del agua de las incubadoras se mantuvo similar, mediante intercambios diarios de agua, a la temperatura registrada en el tanque de reproductores. Este procedimiento permite disminuir cualquier posible estrés térmico, que podría afectar al desarrollo embrionario.

Según la historia de la recogida de huevos, el desove de los bonitos del Pacífico Sur debió producirse a primera hora de la mañana. Los huevos recogidos de *S. chiliensis chiliensis*, tras 14-16 horas de incubación, presentaban estadios de cuatro blastómeros (110-120 MPF) y una mórula avanzada (300-320 MPF).

CARACTERÍSTICAS DE LOS HUEVOS

Los huevos viables o fecundados producidos por *Sarda chiliensis chiliensis* eran esféricos, translúcidos, pelágicos, no adherentes y de tipo telolecitario debido a la acumulación de vitelo en el polo vegetal. Presentaban una división meroblástica discoidal durante las primeras fases de desarrollo.

En la figura 6 se observan algunos de los estadios de desarrollo embrionario de *Sarda chiliensis chiliensis*. Se caracterizaron 31 estadios de desarrollo embrionario que se registraron durante 71,83 h (3 días) de incubación. La relación entre el tiempo y el estadio de desarrollo embrionario se obtuvo a 20,40 ºC y 22,87 ºC, que corresponden a los periodos de desove de enero y marzo de 2013, teniendo una media de 21,71 ºC ± 0,88

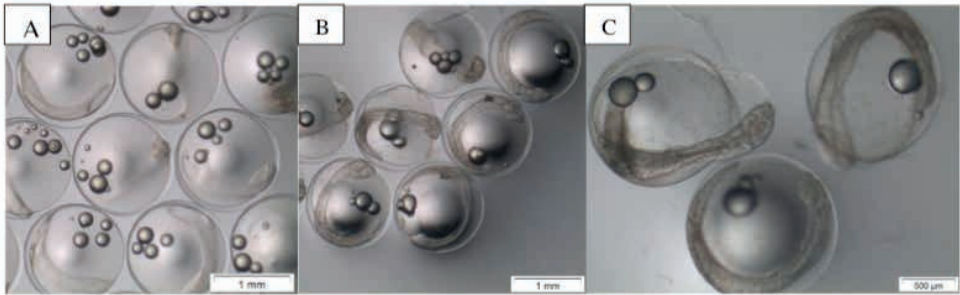



Figura 6. Etapas del desarrollo embrionario de *Sarda chiliensis chiliensis*: A) formación del embrión; B) segmentación del embrión; y C) eclosión del huevo.

PARTE 4: DESARROLLO LARVARIO Y CULTIVO LARVAL DE *Sarda chiliensis chiliensis*

INTRODUCCIÓN

Procedimientos adecuados en la reproducción y crianza, permiten entregar crías a gran escala (millones de larvas por batch) para los sistemas de engorde en sus diferentes niveles (extensivo, semi-intensivo e intensivo) y también para los otros sistemas como estanques, jaulas, canales, raceway y otros (Escárcega, 2020). En efecto, resulta posible asegurar nuevas cadenas de valor con especies que presentan valores nutricionales altos y una importante demanda en el mercado. Esto es justamente el objetivo central de las investigaciones publicadas recientemente por Pepe-Victoriano *et al*., (2021a; 2021b; 2022a; 2022b) el cual entrega conocimiento y una nueva forma de elevar las producciones actuales de peces marinos a nivel comercial.

Actualmente existe la oportunidad de generar más producción de larvas de peces marinos en estadio de alimentación (cuando han agotado sus reservas e inician su alimentación natural) esto permite un perfeccionamiento de tecnologías para el cultivo larval y la crianza, capaces de garantizar la necesidad de larvas y juveniles que se requiere en los sistemas de engorde.

Hace muchas décadas, China ha venido desarrollando modelos productivos como el sistema acoplado de desove e incubación (Escárcega, 2020) el cuál entrega con eficacia al vasto potencial biológico de diferentes especies de peces de importancia comercial, aumentando la productividad en los desoves, incubación y la producción larvas.

De la misma forma, para la producción de larvas a mayor escala, se ha venido desarrollado cultivos larvales en sistemas abiertos como por ejemplo en estanques, que facilitan el manejo de una gran cantidad de larvas, con sobrevivencia, que alcanzan hasta un 60% para el periodo larval en estadio de alimentación a larvas de 3 cm (Horváth, *et al*., 1986). Para los peces marinos, países como Tailandia y Australia producen esta alternativa con gran éxito en la producción comercial de larvas de robalo del Indo pacífico, *Lates*

calcarifer (Kungvankij *et al.*, 1985).

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LOS ESTADIOS DE DESARROLLO LARVARIO

La eclosión de los huevos se produce aproximadamente a las 72 h de incubación, dando lugar a larvas completamente translúcidas bajo el estereoscopio. Al eclosionar, las larvas tienen una longitud total de 4,12 ± 0,03 mm. La cabeza estaba inclinada hacia abajo y la glándula de eclosión se encontraba en la parte exterior de la superficie de la cabeza. La boca estaba abierta y faltaban los ojos y el opérculo branquial. No se mostraban aletas, salvo la gran aleta primordial que bordeaba la notocorda. La aleta primordial era más ancha en la parte dorsal del cuerpo y se estrechaba en la parte caudal. Las larvas mostraban un gran saco vitelino que contenía un glóbulo oleoso en la porción posterior. En la figura 7 puede observarse el crecimiento larvario, desde la eclosión del huevo hasta la fase prejuvenil.

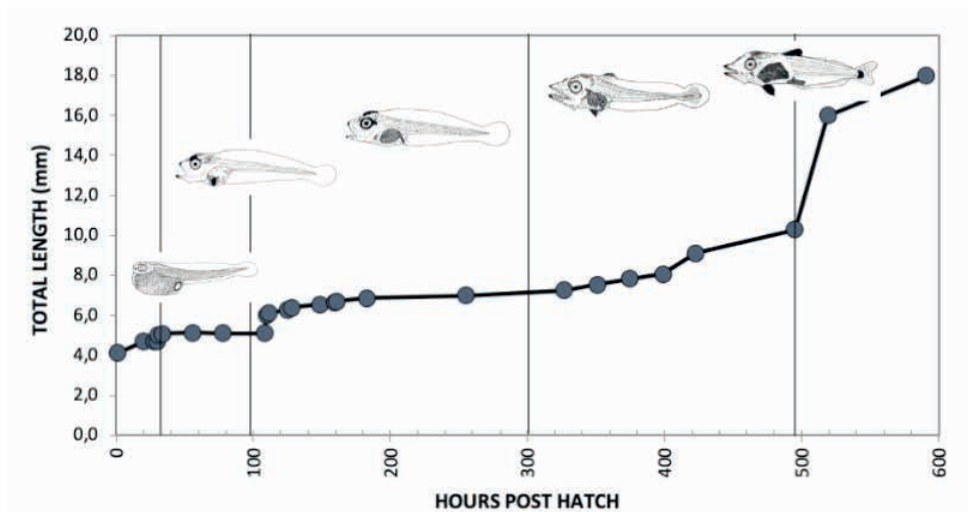



Figura 7. Crecimiento de la longitud total del bonito del Pacífico Sur desde la eclosión hasta la fase prejuvenil.

El crecimiento moderado, en las primeras etapas del desarrollo larvario, estuvo asociado al desarrollo interno de las estructuras mandibulares y oculares. Sin embargo, cuando las larvas alcanzan los 10 mm de longitud total, unas 500 h después de la eclosión, la tasa de crecimiento se acelera exponencialmente (Fig. 7). En la Fig. 8 se observan los estadios de desarrollo larvario, prejuvenil y juvenil propuestos para *Sarda chiliensis chiliensis* en este estudio.

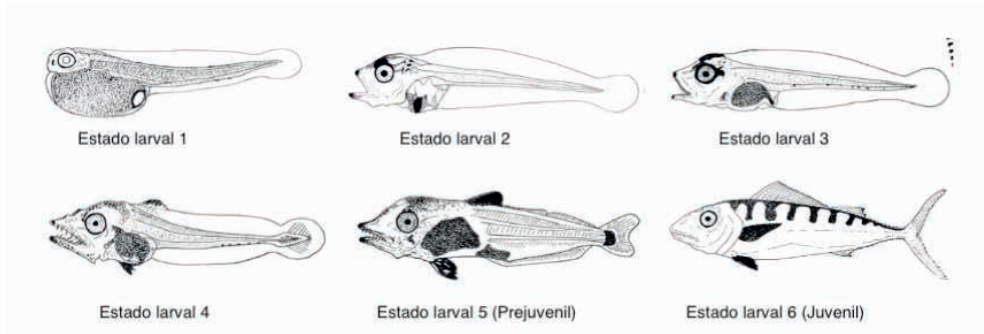



Figura 8.- Estadios de desarrollo larvario, prejuvenil y juvenil propuestos para *Sarda chiliensis chiliensis*

ALIMENTACIÓN DE LARVAS

Las larvas de peces fueron alimentadas con rotíferos en pequeñas adiciones para ajustar la tasa de alimentación en función del consumo. El suministro de alimento comienza con nauplios de camarón de salmuera, seguido de microgránulos y, finalmente, con larvas de *Mugil cephalus* (Stuart & Drawbridge, 2013; Muñoz *et al.*, 2012; Pepe-Victoriano *et al.*, 2012). A raíz de las observaciones de canibalismo (en experiencias anteriores) y considerando que los nauplios de artemias eran pequeños, se decidió incorporar a la dieta larvas de *Mugil cephalus*, cuyo tamaño en longitud total estaba entre 3 y 4 mm. A partir de los 16 dph, comenzó la fase de alimentación piscívora, que consistió en la introducción de larvas de *Mugil cephalus*, cuyo tamaño oscilaba entre 10 y 20 mm a una densidad de 20 larvas por litro.

Las larvas de bonito del Pacífico Sur son alimentadores visuales. Su comportamiento de caza se caracterizó por una torsión de todo el cuerpo en posición sinusoidal, seguida de rápidas ráfagas hacia la presa detectada. El protocolo de alimentación de larvas para el cultivo de bonito del Pacífico Sur se muestra en la Figura 9.

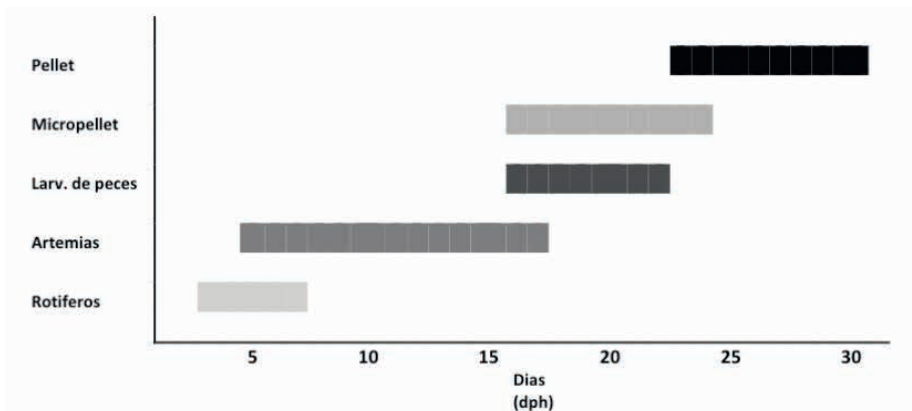



Figura 9. Protocolo de alimentación de larvas de *Sarda chiliensis chiliensis*

CONCLUSIONES GENERALES

1. Se estableció un primer plantel de reproductores de Bonitos del Pacífico Sur, *Sarda chiliensis chiliensis* capturados del ambiente salvaje. Este protocolo, podría ser utilizadas para otras especies de peces pelágicos, principalmente túnidos de importancia comercial.

2. La metodología y resultados de la incubación de huevos de *Sarda chiliensis chiliensis* permitió actualizar y estandarizar los antecedentes hasta ahora publicados, lo que nos permitió obtener un mayor conocimiento del desarrollo embriológico de esta especie, como por ejemplo, el tiempo de eclosión de los huevos, el cual no supero las 72 horas.

3. Se establecieron 6 estado de desarrollo larvario del Bonito del Pacífico Sur, en un tiempo de poco más de 592 horas. Durante el periodo de desarrollo larval las proporciones corporales medidas y las tasas de crecimiento cambiaron de forma variable.

4. Las tres investigaciones expuestas en este trabajo establecieron la "factibilidad biológica" de conformar un stock de reproductores a partir de una acuicultura basada en pesquerías, y que además se logró un desove espontáneo en menos de un año de cautiverio, generando huevos viables que llevo como resultado, la eclosión de larvas, también viables.

5. En el presente trabajo, se entregan resultados concluyentes para considerar a esta especie, como una verdadera alternativa de cultivo comercial en el norte de Chile y así diversificar la acuicultura nacional.

REFERENCIAS

Alves, M. & Moura, A. (1992). Estadios de desenvolvimento embrionario de curimatapioa *Prochilodus affinis* (Reinhardt, 1874) (Pisces, Prochilodontidae). Encontro anual de aquicultura de Minas Gerais, 10, Belo Horizonte, Brasil. Trˆes Marias: CODEVASF, pp. 61–71.

Arana, P.M. (2012). Recursos pesqueros del Mar de Chile. Escuela de Ciencias del mar, PUCV. Valparaiso. 308 pp.

Astorga, M., Rodríguez, E. & Díaz, C. (2007). Comparison of minerals and trace element concentration in two mollusks from the Strait of Magellan (Chile). J. Food Comp. Annual, 20, 273-279.

Azfar Ismail, M., Kamarudin, M.S., Syukri, F., Ain, Siti Nur & Latif, K., (2019). Changes in the Mouth Morpho-histology of Hybrid Malaysian Mahseer (Barbonymus Gonionotusfemale X Tor tambroides Male) During the Larval Development. Aquaculture Reports 15. UNSP 100210.

Belmonte, A., A. Ortega & F. de la Gándara. (2007). Cultivo de túnidos. Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura, Vigo, Espana: 539-546.

Barrett, I., (1971). Preliminary Observations on the Biology and Fishery Dynamics of the Bonito (*Sarda Chiliensis*) in Chilean Waters. Boletín Científico. Fomento Pesquero, Santiago, chile, 15, pp. 1–55.

Berg, J. (1979). Discussion of methods of investigating the food of fishes, with reference to a preliminary study of the prey of *Gobiusculus flavescens* (Gobiidae). Marine biology, 50(3), 263-273.

Botta, P., Sciaraa, A., Arranza, S., Murgasb, L., Pereirab, G. & Oberlenderb, G. (2010). Estudio del desarrollo embrionario del sá balo (*Prochilodus lineatus*). Arch. Med. Vet. 42, 109–111 (in Spanish).

Botero, J. & J.F. Ospina. (2002). Crecimiento y desempeño general de juveniles silvestres de mero guasa *Epinephelus itajara* (Lichtenstein) mantenidos en jaulas flotantes bajo diferentes condiciones de cultivo. Bol. Invest. Mar. Cost., 32: 25-36.

Bustos, C. & M. Landaeta. 2005. Desarrollo de huevos y larvas tempranas de la merluza del sur, *Merluccius australis*, cultivados bajo condiciones de laboratorio. Gayana, 69(2): 402-408.

Carpenter S. R. y Kitchell J. F. (1993). The trophic cascade in lakes. Cambridge University Press, Cambridge.

Castro-González, M., Ojeda., V. A., Montaño, B.S. Ledesma, C.E. & Pérez-Gil, R.F. (2007). Evaluación de los ácidos grasos n-3 de 18 especies de pescados marinos mexicanos como alimentos funcionales. ALAN 57, 85-93.

Celik, Pinar & Sukran, Cirik. (2019). Embryonic and larval development of serpae tetra *Hyphessobrycon eques* (Steindachner, 1882). Aquac. Res. 51 (1), 292–306 https://doi- org.ezproxy2.ucn.cl/10.1111/are.14375.

Chirichigno, N. (1980). Claves para identificar los peces marinos del Perú. Instituto del Mar del Perú-IMARPE.

Chukwu, O. & Mohammed, I. (2009). Effects of Drying Methods on Proximate Compositions of Catfish (*Clarias gariepinus*). World J. Agric. Sci., 5, 114-116.

Collette, B. B., & Chao, L. N. (1975). Systematics and morphology of the bonitos (*Sarda*) and their relatives (Scombridae, Sardini). Fishery Bulletin.

Collette, B. B., & Nauen, C. E. (1983). Scombrids of the world: an annotated and illustrated catalogue of tunas, mackerels, bonitos, and related species known to date. v. 2.

Conklin, D., Piedrahita, R., Merino, G., Muguet, J., Bush, D., Gisbert, E., Rounds, J. & Cervantes-Trujano, M.0. (2004). Developments of California halibut, *Paralchthys californicus*, culture. Journal of Applied Aquaculture, 14(3-4), 143-154.

Cortes, R., C. Jélves, E. Larraín, G. Parada & L. Vidal. 2001. Florece la acuicultura en el desierto. Aqua-noticias, 12(59): 92 pp.

Davis, A.M., Pusey, B.J. & Betancur-R, R. (2020). Effects of adoption of freshwater

residency on life-history ecology of terapontid grunters. Freshw. Biol. 65 (6),

1139–1152. https://doiorg.ezproxy2.ucn.cl/10.1111/fwb.13499.

Dolson R., McCann K., Rooney N. & Ridgway M. (2009). Lake morphometry predicts the degree of habitat coupling by a mobile predator. Oikos 118:1230-1238.

Escárcega S. (2020). ¿Cultivo de Peces Marinos? Hablemos de larvicultura en estanques. Revista Digital Universitaria. Vol. 21, Num. 2, marzo-abril.

FAO (2020). El estado mundial de la Pesca y Acuicultura 2020. La Sostenibilidad en Acción. Roma. https://doi.org/10.4060/ca9229es

Flores, H., & Rojas, P. (1987). Contenido gástrico de *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898 capturado frente a Valparaíso (Perciformes, Notothenidae). Invest. Mar., Valparaíso, 15, 33-40.

Frimodt, C., (1995). Multilingual illustrated guide to the world's commercial coldwater fish. Fishing News Books, Osney Mead, Oxford, England. 215 p.

Fuentes, A., I. Fernández-Segovia, I. Escriche & J. Serra. (2009). Comparison of physicochemical parameters and composition of mussels (*Mytilus alloprovincialis* Lmk.) from different Spanish origins. Food Chem., 112, 295-302.

García, C., & Chong, J. (2002). Composición de la dieta de *Brama australis* Valenciennes 1837 en la zona Centro-Sur de Chile (VIII Región) en Otoño 2000 y Verano 2001. Gayana (Concepción), 66(2), 225-230.

Gisbert, E., Merino, G., Muguet, J., Bush, D., Conklin, D. & Piedrahita, R. (2002). Morphological development and allometric growth patterns in California halibut (*Paralichthys californicus*) larvae. J. Fish Biol. 61, 1217–1229.

Gisbert, E., Piedrahita, R. & Conklin, D. (2004). Ontogenic development of the digestive system in California halibut (*Paralichthys californicus*) with notes on feeding practices. Aquaculture 232, 455–470.

Grignon, J. (2010). Post-larval capture and culture (PCC) for coral reef fish stock enhancement in Fiji. Doctorat de l'Université de Perpignan Via Domitia et de l'Université du Pacifique Sud à Fidji, 197 pp.

Harmon, T. (2009). Methods for reducing stressors and maintaining water quality associated with live fish transport in tanks: a review of the basics. Reviews in Aquaculture. 1: 58-66.

Heupel, M. R., & Bennett, M. B. (1998). Observations on the diet and feeding habits of the epaulette shark, *Hemiscyllium ocellatum* (Bonnaterre), on Heron Island Reef, Great Barrier Reef, Australia. Marine and Freshwater Research, 49(7), 753-756.

Horváth, L., Tamás, G., & Coche, A. G. (1986). La carpa común. Parte 2. Producción masiva de alevines y jaramugos. Colecc. fao: Capacitación, 9, 83.

Izquierdo, P., Torres, G., Barboza, Y., Márquez, S. & Allara, M. (2000). Análisis proximal, perfil de ácidos grasos, aminoácidos esenciales y contenido de minerales en doce especies de pescado de importancia comercial en Venezuela. ALAN 50, 187-194.

Jeppesen E., Jensen J. P., Søndergaard M., Lauridsen T. L., Junge P. & Jensen L. (1997). Top-down control in freshwater lakes: the role of nutrient state, submerged macrophytes and water depth. Hydrobiologia 342/343: 151-164

Klawe, W. L. (1961). Notes on larvae, juveniles, and spawning of bonito (*Sarda*) from the Eastern Pacific Ocean.

Knight T. M., Chase J. M., Hillebrand H. & Holt R. D. (2006). Predation on mutualists can reduce the strength of trophic cascades. Ecology Letters 9: 1173-1178

Knight T. M., McCoy M. W, Chase J. M., McCoy K. A. & Holt R. D. (2005). Trophic cascades across ecosystems. Nature 437: 880-883.

Kuo, C.M. (1970). Taxonomic, growth, and maturation studies on the bonitos of the temperate Eastern Pacific Ocean PhD. Thyesis. Univ, Calif. San Diego. 321 pp.

Kungvankij P., Tiro, L. B. Jr, Pudadera, B. J. Jr & Potests, I. O. (1985). Training Manual Biology and Culture of Sea Bass (Lates calcarifer). Network of Aquaculture Centres in Asia.

Lövgren J. & Persson L. (2002). Fish-mediated indirect effects in a littoral food web. Oikos 96: 150-156.

Marancik, Katrin E., Richardson, David E. & Konieczna, Małgorzata, (2020). Updated morphological descriptions of the larval stage of Urophycis (Family: phycidae) from the Northeast United States continental shelf. COPEIA 108 (1), 83–90. https://doi. org/10.1643/CG-19-219.

Martín, S. (2018). Bonito: el pescado perfecto para perder peso. 26 de marzo 2022. https://as.com/deporteyvida/2018/07/24/portada/1532420965_514810.html

Massol F., Gravel D., Mouquet N., Cadotte M. W., Fukami T. & Leibold M. A. (2011). Linking community and ecosystem dynamics through spatial ecology. Ecology Letters 14:313-323.

Mann, G. (1954). Vida de los peces en aguas chilenas (No. 597 MAN).

Magnuson, J. J., & Prescott, J. H. (1966). Courtship, locomotion, feeding, and miscellaneous behaviour of Pacific bonito (*Sarda chiliensis*). Animal behaviour, 14(1), 54-67.

Magnuson, J. J., & Heitz, J. G. (1971). Gill raker apparatus and food selectivity among mackerels, tunas, and dolphins. Fish. Bull, 69(2), 361-370.

Medina, M.; Araya, M.C. (2019). Hábitos tróficos del bonito *Sarda chiliensis* (Cuvier 1832) (Pisces: Scombridae) en el norte de Chile. In Proceedings of the Congreso de Ciencias del Mar. Libro de resúmenes Iquique, Chile, mayo 27 al 31, p. 478.

Medina, M. & Arancibia, H. (2002). Dinámica trófica del jurel (*Trachurus symmetricus* murphyi) en el norte de Chile. Investigaciones marinas, 30(1), 45-55.

Méndez-Abarca F & R Pepe-Victoriano. 2020. Peces Marinos del Norte de Chile. Guía para la identificación y mantenimiento en cautiverio. 1st ed. Fundación Reino Animal (ed). 83 pp.

Motta R. L. & Uieda V. S. (2005). Food web structure in a tropical stream ecosystem. Austral Ecology 30: 58-73.

Muñoz, A., E. Segovia & H. Flores. (2012). Acondicionamiento de reproductores, desove y cultivo larval de *Graus nigra* (Philippi, 1887) (Kyphosidae: Girellinae). Lat. Am. J. Aquat. Res., 40(3): 584-895.

Oka, Shin-ichiro, Nakamura, Masaru, Nozu, Ryo, & Miyamoto, Kei, (2020). First observation of larval oarfish, *Regalecus russelii*, from fertilized eggs through hatching, following artificial insemination in captivity. Zoological Lett. 6 (4) https://doi.org/10.1186/ s40851-020-00156-6.

Olden J. D., Hogan Z. S. & Vander Zanden M. J. (2007). Small fish, big fish, red fish, blue fish: size-biased extinction risk of the world's freshwater and marine fishes. Global Ecology y Biogeography 16: 694-701.

Özden, Ö. (2010a). Seasonal differences in the trace metal and macrominerals in shrimp (*Parapenaus longirostris*) from Marmara Sea. Environ. Monit. Assess, 162, 191-199.

Özden, Ö. (2010b). Micro, macro mineral and proximate composition of Atlantic bonito and horse mackerel: a monthly differentiation. Int. J. Food Sci. Technol., 45, 578-586.

Pace M. L., Cole J. J., Carpenter S. R., Kitchell J. F., Hodgson J. R., Van de Bogert M. C., Bade D. L., Kritzberg E. S. & Bastviken D. (2004). Whole-lake Carbon-13 additions reveal terrestrial support of aquatic food webs. Nature 427: 240-243.

Papandroulakis, N., M. Suquet, M.T. Spedicato, A. Machias, C. Fauvel & P. Divanach. (2004). Feeding rates, growth performance and gametogenesis of wreckfish (Polyprion americanus) kept in captivity. Aquacult. Int., 12: 395-407.

Pepe-Victoriano, R., Araya, M. & Faúndez, V. (2012). Efecto de la temperatura en la supervivencia embrionaria y primeros estadios larvales de *Psetta maxima*. Int. J. Morphol. 30 (4), 1551–1557 (in Spanish).

Pepe-Victoriano, R., Araya, M., Faúndez, V. & Rodríguez, M. (2013). Optimización en el manejo de reproductores para una mayor producción de huevos y larvas de *Psetta maxima* (Linneaus, 1758). Int. J. Morphol. 31 (3), 873–878 (in Spanish).

Pepe-Victoriano, R.; Miranda, L.; Ortega, A. & Merino, G.E. (2021a)**.** Descriptive morphology and allometric growth of the larval development of *Sarda chiliensis chiliensis* (Cuvier, 1832) in a hatchery in northern Chile. Aquac. Rep., 19, 100576.

Pepe-Victoriano, R.; Miranda, L.; Ortega, A. & Merino, G. (2021b), First natural spawning of wild-caught premature south pacific bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*, cuvier 1832) conditioned in recirculating aquaculture system and a descriptive characterization of their eggs embryonic development. Aquac. Rep. 19, 100563.

Pepe-Victoriano, R.; Aravena-Ambrosetti, H.; Huanacuni, J. I.; Méndez-Abarca, F.; Godoy, K. & Álvarez, N. (2022a) Feeding Habits of *Sarda chiliensis chiliensis* (Cuvier, 1832) in Northern Chile and Southern Perú. Animals 12(7), 930

Pepe-Victoriano, R., Aravena-Ambrosetti, H., & Merino, G. E. (2022b). Breeding of a Wild Population of South Pacific Bonito *Sarda chiliensis chiliensis* (Cuvier 1832) Broodstock under Laboratory Conditions in Pisagua, Northern Chile. Animals, 12(1), 24.

Perea, A., Gómez, E., Mayorga, Y., & Triana, C.Y. (2008). Caracterización nutricional de pescados de producción y consumo regional en Bucaramanga, Colombia. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 58, 91-97.

Pinkas, L. (1971). Food habits of albacore, bluefin tuna and bonito in California waters. Calif. Dept. Fish and Game Fish Bull., 152, 1-105.

Polis G. A. & Strong D. R. (1996). Food web complexity and community dynamics. American Naturalist 147: 813-846.

SERNAPESCA (2020). Anuario Estadístico en Pesca y Acuicultura 2020. 26 de marzo 2022. Disponible online: http://www.sernapesca.cl/informacion-utilidad/anuarios-estadisticos-de-pesca-y-acuicultura

Schindler D. E. & Scheuerell M. D. (2002). Habitat coupling in lake ecosystems. Oikos 98: 177-189

Syafiq, Ahmad, Nasir, Ahmad, Mohamad, Samsur, & Mohidin, Mohammed, (2020). Early life history of yellow puffer, *Chonerhinos naritus* (Richardson, 1848) from Sarawak, Aquaculture Reports 19 (2021) 100563 Northwestern Borneo. Aquac. Res. 51 (6), 2505–2514. https://doi.org/10.1111/ are.14593.

Skillman, R. (1975). An assessment of the south Pacific albacore, *Thunnus alalunga*, fishery. 1953-72. Mar. Fish. Rev., 37(3): 9-17.

Silva, M., & Stuardo, J. (1985). Alimentación y relaciones tróficas generales entre algunos peces demersales y el bentos de Bahía Coliumo (Provincia de Concepción, Chile). Gayana. Zoologia, 49(3-4), 77-102.

Silva, A. & H. Flores. 1989. Consideraciones sobre el desarrollo y crecimiento larval del lenguado (Paralichthys adspersus Steindachner, 1987) cultivado en laboratorio. Rev. Pac. Sur, Número Especial: 629-634.

Silva, A., & M. Oliva. (2010). Revisión sobre aspectos biológicos y de cultivo del lenguado chileno (*Paralichthys adspersus*). Lat. Am. J. Aquat. Res., 38(3): 377-386.

Stuart, K., Drawbridge, M., 2013. Captive spawning and larval rearing of California yellowtail (*Seriola lalandi*). Aquac. Res. 44, 728–737.

Vander-Zanden M. J. & Vadeboncoeur Y. (2002). Fishes as integrators of benthic and pelagic food webs in lakes. Ecology 83: 2152-2161.

Vildoso, A. C. (1960). Estudios sobre la reproducción del" bonito" Sarda chilensis (C. y V.) en aguas adyacentes a la costa peruana. Ministerio de Agricultura, Dirección de Pesquería y Caza.

Winemiller K. O. (1990). Spatial and temporal variation in tropical fish trophic networks. Ecological Monographs 60: 331-367.

Wöhler, O. C. & Sanchez, F. (1994). Feeding ecology of castaneta (*Cheilodactylus bergi*; Pisces: Cheilodactylidae) in the south-western Atlantic (34–47-degree S). Marine and Freshwater Research, 45(4), 507-520.

Yoshida, H. (1980). Synopsis of biological data on bonitos of the genus Sarda. NOAA Technical. Report. NMFS Circular. 432, FAO Fisheries Synopsis: 1-50 pp.

Yoshinori, Aoki, Jusup, Marko, Nieblas, Anne-Elise, Bonhommeau, Sylvain, Kiyofuji, Hidetada & Kitagawa, Takashi, (2020). Early-life ontogenetic developments drive tuna ecology and evolution. J. Mar. Syst. 206, 103307 https://doi.org/ 10.1016/j.jmarsys.2020.103307.

CAPÍTULO 4

EFEITO NA MORFOGÊNESE EMBRIONÁRIA DO *Aedes aegypti* ORIUNDA DA *Cannabis sativa* L. (Moraceae)

Data de aceite: 02/10/2023

Suelice Guedes da Silva Brito
Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia- Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-420, Recife, Pernambuco, Brasil.
https://orcid.org/0000-0002-0617-703X

Tainá Maria Santos da Silva
Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia- Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-420, Recife, Pernambuco, Brasil.
https://orcid.org/ 0000-0002-8142-1995.

Paloma Lys de Medeiros
Departamento de Histologia e Embriologia - Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-420, Recife, Pernambuco, Brasil.
https://orcid.org/0000-0001-9517-1416

Antônio Fernando de Oliveira
Departamento de Botânica - Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-420, Recife, Pernambuco, Brasil.

Sônia Pereira Leite
Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia- Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-420, Recife, Pernambuco, Brasil.
https://orcid.org/000-0002-0634-9734

RESUMO: As arboviroses ainda são um problema de saúde pública, e o principal vetor é o *Aedes aegypti. A Cannabis sativa L*. (Moraceae) é uma planta que apresenta grande potencial terapêutico, apesar de suas propriedades psicotrópicas. A proposta deste estudo foi analise fitoquimica dos Canabinoides e observar durante na morfogênese embrionária os aspectos morfológicos das larvas de Aedes Aegypti oriunda da *Cannabis Sativa*. As análises físico-químicas foram realizadas por cromatografia em camada delgada (CCD) e o bioensaio com extrato metanólico de inflorescências da *C annabis s ativa L (EMICs)*, em diferentes concentrações (250, 500, 750 e 1000 µg/mL) foram observadas as alterações morfológicas nas larvas do 4º estagio (L4) em montagem total do mosquito *A. Aegypti*. Os resultados por CCD do EMICs foi detectada a presença de: Flavonoides, Cumarina, Terpenos, Fenol e ausência de Alcaloides e Saponina. As observações das larvas controlem de A. *aegypti* apresentaram aspecto morfológico externo alongado e vermiforme. As que foram tratadas com o *EMICs* apresentaram aspecto morfológico externo semelhante ao das larvas controle, porém, após 72 horas de tratamento foi observado que as larvas

do estágio L4 expulsaram do tubo digestório para o meio externo, a membrana peritrofica contendo o alimento. Neste trabalho, a matriz peritrófica das larvas tratadas apresentou-se menos espessa do que a das larvas controle. Isso se deve ao fato de que a extrusão desta membrana foi um fato marcante neste trabalho.

PALAVRAS-CHAVE: *Aedes aegypti*, *Cannabis sativa L.*, Embriotoxicidade, ovos, Larvas.

1 I INTRODUÇÃO

O mosquito *Aedes aegypti Linnaeus* é um vetor e promove a disseminação de quatro sorotipos de vírus da dengue. No entanto, uma diminuição no controle efetivo do vetor tem sido descrita devido a tolerância das larvas. De acordo com a origem embrionária e função fisiológica do *A. aegypti*, o trato digestivo é dividido em três regiões principais: intestino anterior, intestino médio e intestino posterior (GODOY 2015). Na grande maioria dos insetos, as células do intestino médio produzem uma matriz extracelular denominada matriz peritrófica (MP), que consiste em uma estrutura saculiforme composta por microfibrilas de quitina, com várias proteínas que suprem a MP são denominadas peritrofinas e precursores de quitina são secretados por células digestivas do intestino médio, e a MP se organiza por intercalação de fibrilas de quitina e peritrofinas (HEGEDUS *et al*, 2009). Plantas foram avaliadas como fonte de inseticidas naturais de A. aegypti e ensaios larvicidas foram conduzidos usando terceiro (L3) e quarto (L4) estágio ou comparando o efeito de extrato vegetal de plantas no desenvolvimento larval de L1 – L4 (MURUGAN; NOORTHEEN 2007)

Vários estudos abordaram a possibilidade de usar a técnica de cultura de embriões como um ensaio para o potencial atóxico embrionário de compostos xenobióticos (ARROIO *et a*l 2004). Leite *et al* (2004) em seus estudos com embriotoxicidade in vitro demonstrou o potencial de baixo nível de toxicidade de plantas medicinais. Ensaio embriotoxico utilizando extrato aquoso de folhas *Indigofera suffruticosa* demonstrou inibição na eclosão de ovos e ecdise das larvas do mosquito A planta apresenta baixo nível de toxicidade, com viabilidade de 98% das larvas de A eagypti (VIEIRA *et al*, 2012). O efeito do extrato aquoso de folhas de *I. suffruticosa* na fase larval (L4) não interfere no desenvolvimento do tamanho dos órgãos reprodutores como testículo e glândulas acessórias do *A.* Aegypti. (SILVA *et al*, 2018).

A *Cannabis sativa L.* (Figura 1) é um arbusto da família Moraceae, conhecido pelo nome de “cânhamo da Índia”, que cresce livremente em várias partes do mundo, principalmente nas regiões tropicais e temperadas. É uma planta dióica, pois tem espécimes masculinos e femininos (Mechoulam, 1973). A potencialidade medicinal da Cannabis está ligada ao grande número de substâncias químicas que já foi encontrado em amostras desta planta, sendo a principal classe a dos canabinóides. O termo canabinóides foi atribuído ao grupo de compostos com 21 átomos de carbono presentes na *C. sativa L.* , além dos respectivos ácidos carboxílicos, análogos e possíveis produtos de transformação. Os compostos canabinóides podem ser classificados como terpenofenóis e não foram

isolados de qualquer outra espécie vegetal ou animal (Mechoulam, 1973). Segundo Pereira (2019), a anlise fitoquímica de extratos hidroalcoolicos da *C. sativa L.* revelou a presença de terpenos, compostos fenólicos e, em particular, os canabinóides. Atualmente vem se desenvolvendo vários estudos com o uso da *C. sativa L*. na terapêutica de várias patologias no campo da medicina e também na medicina veterinária para o controle da dor neuroptica inflamatória e osteoartrose em animais com foco em felinos e caninos.
No entanto é de suma importância a busca por novos meios de tratamento e sabendo da diversidade terapêutica de uma única planta é primordial que exploremos todo seu potencial. (PRADO *et al.,* 2021). Considerando que o material biológico é de fácil manuseio e o processo de execução da embriotóxicidade é rápido e eficaz. A proposta deste estudo foi analise fitoquimica dos Canabinoides e observar durante na morfogênese embrionária os aspectos morfológicos das larvas de Aedes Aegypti frente a *Cannabis Sativa*.

Figura 1- *Cannabis sativa L.*

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Material vegetal e autenticação – O material vegetal (A *Inflorescências da Cannabis sativa L*.) foi coletado na associação de *Cannabis* medicinal sob a responsabilidade do HABEAS CORPUS CRIMINAL (0816688-22.2021.4.05.8300), no período de julho de 2022 na cidade de Paulista, Estado de Pernambuco, Brasil. A amostra autenticada pela Bióloga Marlene Barbosa do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) encontra-se catalogada sob o número 89.911 no Herbário do Centro de Ciências Biológicas da UFPE.

Mosquitos - Ovos de *A. aegypti* da linhagem Rockefeller, foram cedidos pelo Laboratório de Fisiologia e Controle de Artropodes e Vetores (LAFICAVE) da Fundação Oswaldo Cruz, do Rio de Janeiro. Os ovos desses mosquitos foram contados usando um microscópio estereoscópio. As lavas geradas foram alimentadas com ração comercial de gatos. As larvas de 1º estágio foram usadas no experimento.

Preparação do Extrato. As inflorescências da *Cannabis sativa L.* (800g) foram lavadas em água corrente, colocados em estufa de fluxo de ar forçado a 40°C para secagem. Posteriormente foram trituradas e pesadas. Em seguida, o produto foi realizado uma maceração com metanol a temperatura ambiente. O material vegetal foi extraído com metanol por 48h em temperatura ambiente. Após a maceração o filtrado foi recolhido e concentrado em evaporador rotativo. O extrato bruto metanolico *(EMICs)* obtido foi transferido para placas de vidro e dessecado em uma capela de exaustão, com o auxílio de jato de ar quente até a completa evaporação do solvente e, posteriormente, armazenado em dessecador até a utilização nos testes de embriotoxicidade. Utilizou-se concentração máxima de 1000 µg/mL. Para tanto, foi feita pesagem de 0,04g do extrato em balança analítica de precisão e, em seguida, foi dissolvido em 400 mL de água destilada. A concentração foi, posteriormente, diluída em concentrações menores de 250, 500, 750 e 1000 µg/mL. Essas soluções foram colocadas em frascos de 25 mL e em cada frasco foram colocadas 20 larvas para o experimento, foram utilizadas larvas de primeiro estádio, imediatamente após as eclosões dos ovos (Vieira *et al* 2012).

Cromatografia de camada delgada (CCD). Cerca de 15g da influorescencia da *Cannabis sativa L.* foram trituradas e submetidas à infusão com 3ml de metanol (70%) sob agitação durante 30 minutos. O extrato da influorescencia da *C. sativa L.* obtidos por infusão passou por filtração, simples em papel de filtro e posteriormente, analisados por cromatografia em camada delgada (CCD), empregando-se diversos sistemas de desenvolvimento e reveladores adequados (WANER *et al* 1984). Foi investigada a presença de alcaloides, flavonoides, cumarina, terpenos, saponina e Fenol.

Ensaio da Embriotoxicidade. O *Aedes aegypti*, cujo nome popular é mosquito da dengue, pertence ao Arthropoda Filo, Classe Hexapoda, Ordem Diptera e família Culicidae. O efeito do extrato metanólico da *EMICs* sobre o desenvolvimento larval, foi testado como recomendado pela Organização Mundial da Saúde (PITTET; DIDIER *et al*, 2009). As larvas foram expostas ao extrato em concentrações 250, 500, 750 e 1000 µg/ml. O bioensaio foi realizado com larvas (n = 20), 1º estagio em triplicata para cada concentração e grupos controle com água destilada. As larvas foram colocadas em recipientes plásticos de 100mL contendo 50mL da solução teste e incubados a 27ºC. As fases de desenvolvimento das larvas foram observadas durante o todo o processo a partir de 0, 12, 24, 36, 48, 60 e 72 h com o auxílio de microscópio DM500 acoplado com câmera ICC50W (Leica[R]).

Estudo morfológico das larvas do A. aegypti. As larvas do mosquito do *A. aegypti* grupo controle e exposto ao *EMICs* foram fixados com formaldeído (2,5%), após completa fixação, foi desidratada em série de etanóis em concentrações crescentes (70 a 100%) para avaliação morfológica, a captura das imagens das preparações histológicas foram realizadas utilizando uma câmera digital DM500 conectada a um microscópio DM500. (ampliação de 40x e 100x).

3 | RESULTADO

Analise fitoquímica

O resultado da Cromatografia em camada delgada (CCD) a partir de extrato metanólico da inflorescência da *C. sativa L.* está detalhado na tabela 2. O Extrato foi investigado com base técnica de cromatografia de camada delgada (CCD) e caracterização que revela a ausência e presença das classes de compostos químicos. No extrato metanólico foi detectado a presença de: Flavonoides, Cumarina, Terpenos, Fenol e ausência de Alcaloides e Saponina.

Material testado	Rendimento (mg)	Testes positivos	Testes negativos
Extrato metanólico Por infusão	3.90mg	Flavonoides, Cumarina, Terpenos e Fenol	Alcaloides e Saponina.

Tabela 1 – Cromatografia em camada delgada (CCD) do Extrato Metonólico da inflorescência de *Cannabis sativa L.*

Estudo Morfológico de Larvas de A. aegypti

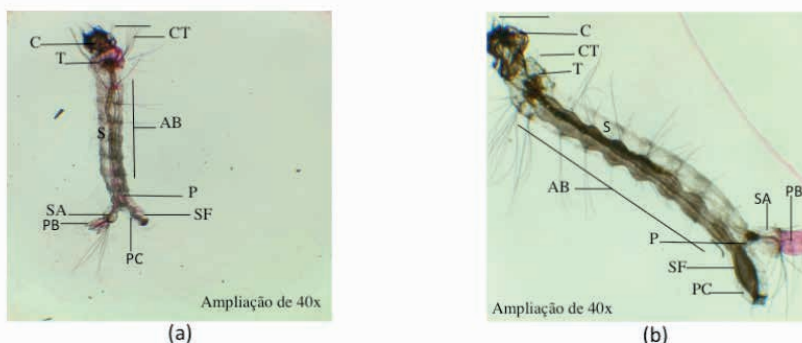



Figura 2- Aspecto morfológico de larvas de A. aegypti na concentração de 1000 µg/mL após o período de 72 horas de incubação. (a) Controle L4 (b) L4 tratada em extrato metanólico de Cannabis sativa L. (A) Antena; (AB) Abdome; (C) Cabeça; (CT) Cerdas do tórax; (T) Tórax; (S) Seguimentos; (P) Ponte; (SA) Seguimento anal; (SF) sifão; (PB) Pólipos branquiais; (PC) Pectem. - Membrana peritrofica (seta) (40x).

Descrição Morfológica de Larvas de *A. Aegypti* L4 vivas controle em água destilada (Figura 2 (a)) e L4 vivas tratadas em extrato metanolico de inflorescencia de *C. Sativa* (*EMICs*) (Figura 2(b)) após 72 h de incubação foram avaliadas usando microscopia óptica invertida. A Figura 2 (a; b) mostram os aspectos morfológicos das larvas de Culicidae é formado por três regiões distintas, denominadas de anterior, mediana e posterior: região anterior a cabeça foi identificado a antenas (A), o tórax um segmento mais amplo com cerdas; a mediana o abdômen constituído de 8 segmentos em cada segmento apresentado cerdas, região posterior e possível observar o Seguimento anal; (SF) sifão; (PB) Pólipos

branquiais; (PC) Pectem das larvas**.** Foi possível observar um aumento do desenvolvimento embrionário das larvas de acordo com as diferentes concentrações em relação ao controle com água destilada com aparência um pouco reduzida. Contudo as larvas expostas ao controle com Temephos não apresentaram forma viáveis com 100% de mortalidade.

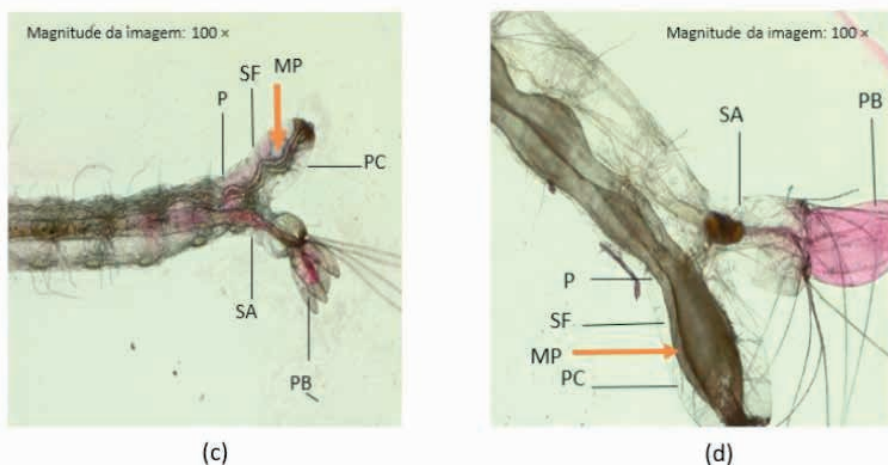



Figura 3 - Aspecto morfológico do intestino posterior da larva de *Aedes aegypti* na concentração de 1000 µg/mL após o período de 72 horas de incubação. (c) Controle L4 (d) L4 tratada em EMICs (P) Ponte; (SA) Seguimento anal; (SF) sifão; (PB) Pólipos branquiais; (PC) Pectem. - (MP) Membrana peritrófica (seta) (100x)

O aspecto morfológico do intestino posterior das larvas controle de A. aegypti apresentaram aspecto morfológico externo alongado e vermiforme (Figura 3 (c)). As que foram tratadas com o *EMICs* apresentaram aspecto morfológico externo semelhante ao das larvas controle, porém, após 72 horas de tratamento foi observada na região posterior do seguimento anal (SF) que as larvas do estágio L4 expulsaram do tubo digestório para o meio externo, a membrana peritrofica (MP) contendo o alimento (Figura 3 (d)). A observação morfológica da região posterior do intestino no seguimento anal (SF) de larvas de A. aegypti em desenvolvimento embrionario tratadas com *EMIC*s (Fig. 3 (d)) mostrou continuidade na estrutura do envelope peritrófico (PE), resultando epitélio subjacente delgado, aumento do lúmen intestinal e segmentos com aspecto hipertrofico em comparação com as larvas controle.

As alteraçoes no desenvolvimento estão diretamente dependentes de mudanças morfológicas que ocorrem quando as larvas estão crescendo em contato com diferentes substâncias de extrato.

4 I DISCUSSÃO

O uso medicinal da *Cannabis* hoje é permitido em alguns estados americanos e em países como Holanda e Bélgica, para aliviar sintomas relacionados ao tratamento de câncer,

AIDS, esclerose múltipla e síndrome de Tourette (que causa movimentos involuntários) (ROBSON 2001; IVERSEN, 2003). No Brasil, o uso medicinal da *Cannabis sativa L.* ou de seus derivados ainda é limitado. Em 2015, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) liberou o uso medicinal de CBD após análise de diversos estudos clínicos, os quais demonstraram a possibilidade do uso terapêutico da substância (ANVISA, 2018)

A proposta deste estudo foi analise fitoquimica dos canabinoides e investigação durante o processo na morfogênese embrionário observando os aspectos morfológico das larvas de *Aedes Aegypti* submetida a exposição do extrato metanólico de inflorescências da *Cannabis sativa L (EMICs)*. O resultado da Cromatografia em camada delgada (CCD) a partir de extrato metanólico da inflorescência da *C. sativa L.* foi detectado a presença de: Flavonoides, Cumarina, Terpenos, Fenol e ausência de Alcaloides e Saponina. Segundo Pereira et al. 2019 a análise fitoquímica de extratos da *Cannabis sativa L.* revelou a presença de terpenos, compostos fenólicos e, em particular, os canabinóide. A presença de terpenos e fenóis obtidos no CCD corrobora com estudo relatado por Mechoulam, (1973) que os compostos canabinóides podem ser classificados como terpenofenóis e não foram isolados de qualquer outra espécie vegetal ou animal.

O uso terapêutico da *Cannabis sativa L.* (maconha) está associado aos efeitos dos seus fitocanabinóides, principalmente o Canabidiol (CBD) (PETROCELLIS, CASCIO & MARZO, 2004). Devido ao grande interesse pelos efeitos causados pelos compostos presentes na Cannabis, vários trabalhos vêm sendo desenvolvidos com intuito de compreender melhor as relações entre estrutura química dos canabinóides e atividade biológica apresentada por esses compostos (MECHOULAM 1973; RAZDAN 1986; TARZIA *et al 2003*; ARROIO *et al* 2004). Estudo similar reportando o processo da morfogênese embrionário observando os aspectos morfológicos das larvas de A. aegypti expostos a inflorescência da *Cannabis sativa L.* não foi encontrado na literatura. Isto dificultar fazer estudo comparativo. Relatos com Embriões de zebrafish foram tratados com CBD a partir da fertilização até completarem 5 dias pós fertilização (dpf), ao completarem 24 horas pós fertilização (hpf) o córion foi retirado e em seguida realizada a microinjeção intracerebroventricular de β-amilóide (10μM), tendo como controles animais injetados com DMSO (1%) e animais não injetados. Aos 5dpf estes animais foram retirados do tratamento e avaliados o comportamento, durante todo o período de tratamento foi realizada uma análise de embriotoxicidade. Não foi observado nenhum efeito na morfologia dos animais injetados comparados ao controle. (CORADINI *et al,* 2012). Análises da embriotoxicidade realizadas no período de 24hpf a 10dpf não demonstraram alterações nas taxas de sobrevivência, eclosão ou malformações no sistema nervoso entre os grupos tratados com CBD em relação aos controles. (CORADINI *et al*, 2012).

Nesse estudo as larvas utilizadas no experimento na morfogênese embrionário foram geradas a partir da eclosão dos ovos de A. aegypti do experimento preliminar. Elas foram expostas nas diferentes concentrações sob o *EMICs* e apresentaram 100% desenvolvimento

de larvas do 1ª estágio até 4ª estágio em relação ao controle de forma similar. Contudo no processo na morfogênese embrionário das larvas onde as mudanças de larvas do 1ª até 4ª estagio de *A. Aegypti,* destacando que nas concentrações de 250 μg/mL a 1000 μg/mL seu potencial embriotóxico é insignificante visto que o desenvolvimento larval acontece no seu processo natural, isto sugere que os compostos químicos presente na espécie *C. sativa L*. não inibe o desenvolvimento das larvas nas mudanças estágios, durante o processo natural de crescimento larval caracterizando ausência de embriotoxicidade. Observação morfo-histológica é importantes ferramentas para detectar alterações nos tecidos e células provocadas por compostos xenobioticos (LEITE 2003). Nas análises microscópicas foram observados os aspectos morfológicos de larvas de 4ª estágio do *A. aegypti* exposto em diferentes concentrações do *EMICs.*

O resultado do efeito do *EMICs* no desenvolvimento do tamanho e formas das larvas no 4ª estágio não mostraram alterações em relação ao controle. Embora a morfologia externa das larvas do grupo teste tenham apresentado características semelhantes às do grupo controle, a extrusão da matriz peritrófica após 72 horas de tratamento do EMICs na concentração 1000 μg/mL, mostra o mecanismo de defesa da larva de *A. aegypti* que elimina todo o alimento contaminado com a substância larvicida. No caso do *EMICs* ingerido pelas larvas de *A. aegypti* junto com o alimento, a extrusão da matriz peritrófica não foi possível identificar a destruição do epitélio intestinal e nem mortalidade das larvas.

A extrusão da matriz serviu para comprovar a ação toxica da substância, o que está de acordo com outros autores (VIEIRA *et al* 2012). As principais alterações morfologica observadas foram: elevada vacuolização citoplasmática, aumento do espaço subperitrófico com acúmulo de material no seu interior, aumento no número de camadas do epitélio, aumento da espessura da matriz peritrófica e hipertrofia das células. Contudo em relação às larvas no 4ª estágio tratada *EMICs* na concentração 1000 μg/mL, apresentaram alterações na região posterior, e expulsaram do tubo digestório para o meio externo, a membrana peritrofica contendo o alimento. Por conseguinte, esses dados caracterizaram alterações morfológicas ou embriotoxicas e ou teratogênicas, uma vez que as *larvas* L4 apresentaram aspecto morfologias não similares em relação ao controle. A matriz peritrófica é extracelular e secretada pelo epitélio do mesentério em alguns *artrópodes*. Esta membrana age como uma barreira protetora contra várias substâncias químicas, agentes microbianos e até mesmo contra agressões físicas causadas pelos alimentos ingeridos (ARRUDA *et al* 2003; BARRETO *et al* 2006).

O mesentério é o principal alvo de substâncias tóxicas, químicas e biológicas e a eliminação da matriz peritrófica, juntamente com o alimento ingerido, parece ser a primeira forma de defesa das larvas para a eliminação do que é toxico. No caso do *cannabis sativa* ingerido pelas larvas de *A. aegypti* junto com o alimento, a extrusão da matriz peritrófica, contudo não ocorreu a mortalidade das larvas. São escassos os trabalhos com as espécies *Cannabis sativa L.* em observação morfológico do *A. aegypti*.

Segundo Vieira *et al* (2012) demonstrou que efeito do extrato aquoso de *I. suffruticosa* pode atuar promovendo alterações morfológicas na membrana peritrofica em larvas de A. aegypti. Além disso, a inibição da formação de membrana peritrofica afetou severamente o desenvolvimento inicial das larvas no 2ª estágio A. aegypti, na região anterior do intestino médio. No entanto, a observação morfológica de larvas submetidas ao extrato aquoso de folhas de *I. suffruticosa* mostrou disruptura da estrutura membrana peritrofica (VIEIRA et al 2012). No entanto, estudos da relação entre estrutura química e atividade biológica têm sido realizados no sentido de modificar a estrutura química destes compostos a fim de suprimir sua psicoatividade (FARIAS; GONÇALVES; NASCIMENTO, 2016).

Neste trabalho, a matriz peritrófica das larvas tratadas apresentou-se menos espessa do que a das larvas controle, contrapondo-se aos resultados apresentados por outros pesquisadores (ARRUDA *et al* 2003; BARRETO *et al* 2006). Isso se deve ao fato de que a extrusão desta membrana foi um fato marcante neste trabalho. O que possibilitara exploração das suas propriedades farmacológicas em outros ensaios. Com o intuito de colaborar nesta discussão, este trabalho busca contribuir para o conhecimento dos possíveis processos envolvidos no uso terapêutico da *Cannabis*, visando o suporte para áreas de pesquisa sobre planejamento de novos compostos canabinóides que apresentem atividade terapêutica e ausência de atividade psicotrópica.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Mestranda Suelice Guedes da Silva Brito e Prof.ª Dr.ª Sonia Pereira Leite: delineamento metodológico, concepção do protocolo de pesquisa, revisão da literatura, Doutoranda Tainá Maria S. da Silva apoio laboratorial, Fotomicrografias; Prof.ª Dr.ª Paloma Lys de Medeiros, Profª. Drª. Sônia Pereira Leite foi responsável pela elaboração dos dados e avaliação da qualidade. Todos os autores revisaram criticamente o artigo e concordaram em ser responsáveis por todos os aspectos do trabalho.

REFERENCIAS

ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. DE; **Animais de laboratório**: criação e experimentação. Rio de Janeiro, Brasil, Editora Fiocruz, 2006.

ARROIO *et al* A theoretical study on the analgesic activity of cannabinoid compounds. **Journal of Molecular Structure**: THEOCHEM, v. 709, n. 1-3, p. 223-229, 2004. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article. Acesso em 10 out. 2022

BRASIL (anvisa)**. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 325, de 3 de dezembro de 2019**. Acesso em: 19 de out 2022]; 344 (69) Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2019.

Arruda W, Oliveira GMC, Silva IG. Toxicidade do extrato etanólico de Magonia pubescens sobre larvas de Aedes aegypti. **Rev Soc Bras Med Trop** 36: 17-25, 2003.

Barreto CF, Cavasin GM, Silva HHG, Silva IG. Estudos das alterações morfohistológicas em larvas de Aedes aegypti (Diptera, Culicidae) submetidas ao extrato bruto etanólico de Sapindus saponária Lin (Sapindaceae). **Rev Patol Trop** 35: 37-57, 2006.

CORADINI, K. et al. Free and nanoencapsulated curcumin prevents scopolamine-induced cognitive impairment in adult zebrafish. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 66, p. 102781, 2021. https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102781

FARIAS, D. F.; GONÇALVES, I. F. de S.; NASCIMENTO, A. P. do N.; (2016) **Avaliação da Ambriotoxicidade da Concentração Inibitória Mínima do Óleo Essencial de *Lippia Sidoides* contra Streptococcus mutans utilizando Danio Rerio, um vertebrado modelo** disponível em: https://www.editorarealize.com.br/editora/anais/conbracis

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ (Brasil). Informativos para compartilhamento nas redes sociais: informações gerais. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2020. Disponível em: https://portal.fiocruz.br/coronavirus/material-para-download. Acesso em 09 de dez 2022

GRAEME L. CLOSE; SCOTT H. GILLHAM; ANDREAS M. KASPER. Canabidiol (CBD) e o atleta: Alegações, Evidências, **Sports Science Exchange** (2021) Vol. 29, No. 213, 1-7, 2021. Disponível: https://gssilatam.org/br/wp-content/uploads/2021/07/213. Acesso em 10 out. 2022

IVERSEN, LESLIE. **Cannabis and the brain**. Brain, v. 126, n. 6, p. 1252-1270, 2003.

KUMAR, RN; CHAMBERS, WA; PERTWEE, RG Ações farmacológicas e usos terapêuticos da cannabis e dos canabinóides. Anestesia, v. 56, n. 11, p. 1059-1068, 2001

LEITE, S.P *et al*. (2004) **Embryotoxicity *in vitro* with extract of *Indigofera suffruticosa* leaves. *Reproductive Toxicology*.** pp. 701-705. **doi**: 10.1265/jjh.73.330.

LEITE, S. P. (2003) *Indigofera suffruticosa* Mill; ensaio fitoquimico e ações biológicas. (Tese de Doutorado em Produtos Naturais). João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba. 2003.

LENIN, J, Q; **Cannabis y medicina tradicional: libertad, sociabilidad y subsidiariedad de este tipo de fitoterapia**. 2015. VE - 2015 Ano 16 nro. 1

LIMA, A. A. de; ALEXANDRE, U. C..; SANTOS, J. S. O uso da maconha (Cannabis sativa L.) na indústria farmacêutica: uma revisão. **Research, Society and Development**, *[S. l.]*, v. 10, n. 12, p. e46101219829, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i12.19829. Disponível em: https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/19829 Acesso em: 27 set. 2022.

MECHOULAM, R.; **Marijuana: Chemistry, Pharmacology, Metabolism and Clinical Effects**, Academic Press: New York, 1973. 2. Mechoulam, R.; Ben-Shabat, S.; Nat. Prod. Rep. 1999, 16, 131.

MURUGAN, K.; MURUGAN, P.; NOORTHEEN, A. **Larvicidal and repellent potential of Albizzia amara Boivin and Ocimum basilicum Linn against dengue vector, Aedes aegypti** (Insecta: Diptera: Culicidae). Bioresource Technology, v. 98, n. 1, p. 198-201, 2007.

PEREIRA, Tamara Sofia Lima dos Santos Pinto. **Análise fitoquímica e atividade biológica de Cannabis ruderalis em modelos in vitro e baseados em células**. Dissertação de Mestrado, Especialização em Biotecnologia, Universidade do Minho, Escola de Ciências, Braga – Portugal dez. 81 pag. 2019.

PITTET, D et al. As diretrizes da Organização Mundial da Saúde sobre higiene das mãos na assistência à saúde e suas recomendações de consenso. **Controle de Infecção & Epidemiologia Hospitalar**, v. 30, n. 7, p. 611-622, 2009.

PRADO, B. N. et al. O uso de Cannabis e suas Aplicações Terapêuticas para Analgesia na Clínica de Pequenos Animais. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, [S. l.], v. 2, n. 3, p. 113, 2021. DOI: 10.51161/rems/1934. Disponível em: https://editoraime.com.br/revistas/index.php/rems/article/view/1934. Acesso em: 27 set. 2022.

RAZDAN, R. K.; Structure-activity relationships in cannabinoids. **Pharmacological reviews**, v. 38, n. 2, p. 75-149, 1986. Disponível em: https://pharmrev.aspetjournals.org/content/38/2/75. Acesso em: 12 out. 2022.

RODRIGUES NETO, A. A. et al. Evaluation of embryotoxic and embryostatic effects of the aqueous extract of Rhizophora mangle and tannic acid on eggs and larvae of Aedes aegypti. Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 90, p. 2141-2148, 2017. https://doi.org/10.1590/0001-3765201720170297

ROBSON, P. Aspectos terapêuticos da cannabis e canabinóides. **The British Journal of Psychiatry,** v. 178, n. 2, p. 107-115, 2001.

SANTOS, R. X.; VOLEJO, I. P. G. "Estudo Experimental in Vivo E in Vitro De Plantas Medicinais Nos Processos De Embriotoxicidade E Teratogenicidade, **Saúde e meio ambiente**: revista interdisciplinar, v. 10, p. 227-240, 2021. https://doi.org/10.24302/sma.v10.2797.

SILVA, T. M. S. et al. Effects of Indigofera suffruticosa Mill (Fabaceae) on the developmental reproductive biology of Aedes aegypti. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 1, p. 2384-2399, 2021.

SILVA. B. SILVA; LEITE. P. S. Efeito da Fração alcaloide bis-indolica de folhas de Indigofera suffruticosa sobre tecido hepático de camundongos portadores de sarcoma 180

TARZIA, G et al**. Synthesis and structure–activity relationships of a series of pyrrole cannabinoid receptor agonists**. Bioorganic & medicinal chemistry, v. 11, n. 18, p. 3965-3973, 2003.

VIEIRA J.R.C. *et al* (2012). ***Indigofera suffruticosa*: an alternative anticancer therapy*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine***; 1-5. http://dx.doi.org/10.1155/2012/741638

VIEIRA, J.R.C *et al* (2012). **Oviposition and Embryotoxicity of *Indigofera suffruticosa* on Early Developmentof *Aedes aegypti*** (Diptera: Culicidae) *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, pp. 1-6 http://dx.doi.org/10.1155/2012/741638

CAPÍTULO 5

EFICIENCIA DE EXTRACCIÓN DE BIOMOLÉCULAS DE ESPECIES VEGETALES CON ETANOL Y ACETONA MEDIANTE EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO

Data de aceite: 02/10/2023

Gisela Margarita Santiago Martínez
Tecnológico Nacional de México (TecNM) / Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca (ITVO)
Ex Hacienda de Nazareno, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca
https://orcid.org/0000-0002-0064-7010

Miguel Ángel Morales Antonio
Tecnológico Nacional de México (TecNM) / Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca (ITVO)
Ex Hacienda de Nazareno, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca

Ernesto Castañeda Hidalgo
Tecnológico Nacional de México (TecNM)/ Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca (ITVO)
Ex Hacienda de Nazareno, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca
https://orcid.org/0000-0001-9296-1439

Salvador Lozano Trejo
Tecnológico Nacional de México (TecNM) / Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca (ITVO)
Ex Hacienda de Nazareno, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca
https://orcid.org/0000-0001-6809-948X

Gerardo Rodríguez Ortiz
Tecnológico Nacional de México (TecNM) / Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca (ITVO)
Ex Hacienda de Nazareno, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca
https://orcid.org/0000-0003-0963-8046

Beatriz Rebeca Hernández Hernández
Tecnológico Nacional de México (TecNM) / Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca (ITVO)
Ex Hacienda de Nazareno, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca
https://orcid.org/0000-0002-0804-7888

RESUMEN: Las especies vegetales sintetizan biomoléculas que se combinan entre sí y forman mezclas complejas que producen actividad biológica antimicrobiana derivada de su metabolismo secundario (Rodríguez et al., 2012; y Adirano et al., 2018). La eficiencia de extracción de metabolitos secundarios depende en gran medida del tipo de disolvente y técnica a utilizar (Hussam et al., 2013; Zulkafli et al., 2014; Setyaningsih et al., 2015). El objetivo del artículo fue estimar la eficiencia de extracción de metabolismos secundarios de

10 especies vegetales con etanol y acetona mediante extracción asistida por ultrasonido en Oaxaca, México. La metodología utilizada fue adaptada de Guerrero et al, (2007). De cada especie se colectó un aproximado de 10 kilogramos en peso fresco y se colocaron en bolsas de papel, se desinfectaron y se deshidrataron por 30 días. Se trituraron en un molino para café de la marca Krups. Se utilizó equipo ultrasónico marca Branson modelo 3800, se aplicó agua destilada a nivel indicado. Se colocaron 3 matraces Erlenmeyer llenados con 350 mL de disolvente (acetona o etanol según el extracto) y 25 g de material vegetal deshidratado y triturado, con lo que se obtuvo una concentración de 71.43 mg mL-1. Esta mezcla se procesó con las ondas ultrasónicas durante 3 horas. El extracto, se colocó en un matraz pera, para la separación del disolvente-extracto en un rotavapor marca Buchi modelo B-100, fueron depositados en cajas Petri etiquetadas, se expuso en una campana de extracción de la marca Novatech, modelo: CE-120BE. Finalmente se colectó con una espátula el extracto resultante, se pesó, se colocó en frascos color ámbar y se almacenó dentro de un refrigerador. Los resultados obtenidos en esta investigación muestran diferencia entre tratamientos debido a la técnica y disolventes evaluados, la eficiencia de extracción varía de acuerdo a la planta y el disolvente utilizado.
PALABRAS CLAVE: café, especies, extracto vegetal.

ABSTRACT: Plant species synthesize biomolecules that combine with each other and form complex mixtures that produce antimicrobial biological activity derived from their secondary metabolism (Rodríguez et al., 2012; and Adirano et al., 2018). The extraction efficiency of secondary metabolites depends to a large extent on the type of solvent and technique to be used (Hussam et al., 2013; Zulkafli et al., 2014; and Setyaningsih et al., 2015). The objective of the article was to estimate the efficiency of extraction of secondary metabolisms of 10 plant species with ethanol and acetone by ultrasound-assisted extraction in Oaxaca, Mexico. The methodology used was adapted from Guerrero et al, (2007). Approximately 10 kilograms in fresh weight were collected from each species and placed in paper bags, disinfected and dehydrated for 30 days. They were ground in a Krups brand coffee grinder. Branson model 3800 ultrasonic equipment was used, distilled water was applied at the indicated level. Three Erlenmeyer flasks filled with 350 mL of solvent (acetone or ethanol depending on the extract) and 25 g of dehydrated and crushed plant material were placed, obtaining a concentration of 71.43 mg mL-1. This mixture was processed with ultrasonic waves for 3 hours. The extract was placed in a pear flask, for the separation of the solvent-extract in a Buchi model B-100 rotary evaporator, they were deposited in labeled Petri dishes, exposed in a Novatech brand extraction hood, model: CE- 120BE. Finally, the resulting extract was collected with a spatula, weighed, placed in amber flasks and stored in a refrigerator. The results obtained in this investigation show a difference between treatments due to the technique and solvents evaluated, the extraction efficiency varies according to the plant and the solvent used.
KEYWORDS: coffee, species, plant extract.

INTRODUCCIÓN

Está claro que el modelo agrícola industrial-convencional y sus cuestionables derivaciones biotecnológicas está agotado y no podrá dar respuestas al desafío actual. Ante

esta circunstancia es necesario un proceso de conversión de sistemas convencionales a sistemas diversificados con racionalidad etnoecológica y de carácter transicional (Nicholls y Altieri, 2012).

Los extractos vegetales, se han vuelto una alternativa ecológicamente sustentable y económicamente viable en el control de plagas y enfermedades (Rodríguez et al., 2012). Esto debido que diversas especies vegetales sintetizan, como parte de su metabolismo secundario, una gran cantidad de biomoléculas que, combinadas forman mezclas complejas que han demostrado actividad biológica antimicrobiana (Adirano et al., 2018; Rodríguez et al., 2012), el carvacrol, eugenol, timol, borneol y fitol son algunas de ellas (Garcia et al., 2010; Kalemba y Kunicka, 2003). Sin embargo, el rendimiento y la eficiencia de extracción de metabolitos, es una interrogante cuando se pretende implementar esta técnica en campo.

La eficiencia y el rendimiento de extracción de metabolitos secundarios depende en gran medida del tipo de disolvente y técnica a utilizar (Bruneton, 2001; Hussam et al., 2013; Luque-García y Luque de Castro, 2004; Setyaningsih et al., 2015; Zulkafli et al., 2014). La variación puede estar determinada también por la cantidad de compuestos o por la diferencia de estos (Sefidkon et al., 2006).

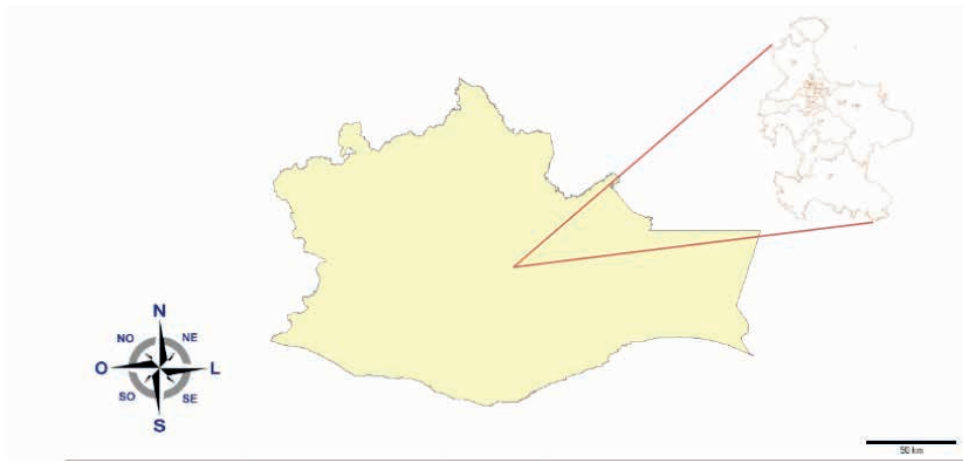
La extracción asistida por ultrasonido es, junto con Soxhlet, la técnica de lixiviación convencional más aceptada (Luque de Castro y García-Ayuso, 1998). Aunque son dos técnicas diferentes, se ha demostrado que la eficiencia es muy parecida (Dunnivant y Elzerman, 1988). No obstante, el proceso es más rápido en la extracción asistida por ultrasonido (Luque de Castro y García-Ayuso, 1998). En muchos casos la técnica de ultrasonido es aconsejable para analitos termolábiles que se alteran cuando se usa Soxhlet (Jenkins y Walsh, 1994).

Es por ello, que el objetivo de esta investigación es estimar la eficiencia de extracción de metabolitos secundarios de 10 especies vegetales con etanol y acetona mediante extracción asistida por ultrasonido, en Oaxaca, México. El trabajo se presenta en dos secciones. La primera presenta los materiales y métodos utilizados durante el desarrollo de la investigación, la segunda muestra los resultados obtenidos acompañado de la discusión, se exponen las conclusiones derivadas del análisis de los resultados encontrados y finalmente la literatura citada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Las colectas fueron extraídas en la región de Valles Centrales de Oaxaca (mapa 1). Las especies experimentales fueron: ajo (Allium sativum L.), suelda con suelda (Anredera vesicaria Lam.), tomillo (Thymus vulgaris L.), Toloache (Datura ferox L.), abrojo amarillo (Tribulus terrestris L.), bejuco de ajo (Adenocalymma alliaceum Lam.), jengibre (Zingiber

officinale Rosc.), poton xihuite (Cestrum sp L.), higuerilla (Ricinus communis L.) y aroma amarillo (Acacia farnesiana L.).

Mapa 1. Valles Centrales de Oaxaca, elaboración propia en mapa digital versión 6.3.0

Se realizó extracción de metabolitos secundarios, con acetona y etanol, a 10 especies vegetales: ajo (*Allium sativum*), suelda con suelda (*Symphytum officinale*), tomillo (*thymus vulgaris*), toloache (*Datura ferox*), abrojo amarillo (*Tribulus terrestres*), bejuco de ajo (*Adenocalymma alliaceum*), jengibre (*Zingiber officinale*), potón xihuite (*Cestrum sp*.), higuerilla (*Ricinus communis*) y aroma amarillo (*Acacia farnesiana*). La colecta se realizó en diversos sitios del estado de Oaxaca. La metodología utilizada fue de Guerrero et al, (2007) con modificaciones. De cada especie se colectó un aproximado de 10 kilogramos en peso fresco y se colocaron en bolsas de papel para su traslado al laboratorio. Se lavaron con agua potable y posteriormente con agua destilada, para la deshidratación se extendieron sobre pliegos de papel estraza bajo sombra durante 30 días. Se trituraron en un molino para café de la marca Krups. Posteriormente se utilizó equipo ultrasónico marca Branson modelo 3800 y se aplicó agua destilada a nivel marcado por el equipo. Se colocaron 3 matraces erlenmeyer previamente llenados con 350 mL de disolvente (acetona o etanol según el extracto) y 25 g de material vegetal deshidratado y triturado, con lo que se obtuvo una concentración de 71.43 mg mL-1. Esta mezcla se procesó con las ondas ultrasónicas durante 3 horas. El extracto, se colocó en un matraz pera, para la separación del disolvente-extracto en un rotavapor marca Buchi modelo B-100. Concluido el proceso, el extracto obtenido se colocó en cajas Petri etiquetadas con la simbología del matraz correspondiente, para su total separación, se expuso en una campana de extracción de la marca Novatech, modelo: CE-120BE. Finalmente se colectó con una espátula el extracto resultante, se pesó, se colocó en frascos color ámbar y se almacenó dentro de un refrigerador.

Se recolectó aproximadamente 10 kilogramos en peso fresco y se colocaron en

bolsas de papel para su traslado al laboratorio, se deshidrataron, posteriormente se moliendo

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos obtenidos del proceso de extracción de las diferentes especies vegetales, se analizaron realizándoles pruebas de medias por el método TUKEY, con el fin de obtener la eficiencia de extracción y error estándar (Figura 1 y 2), los cuales fueron analizados mediante el programa estadístico SAS. Statystical Analysis System.

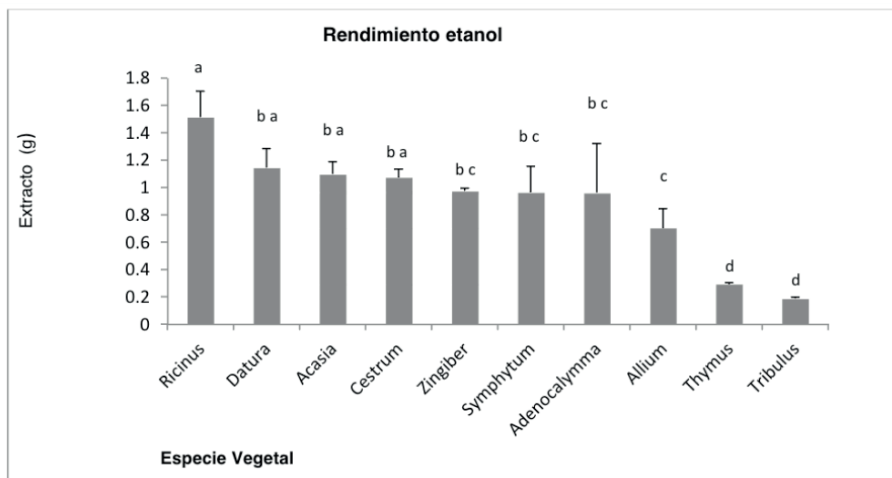



Figura 1. Rendimiento de extracción con etanol

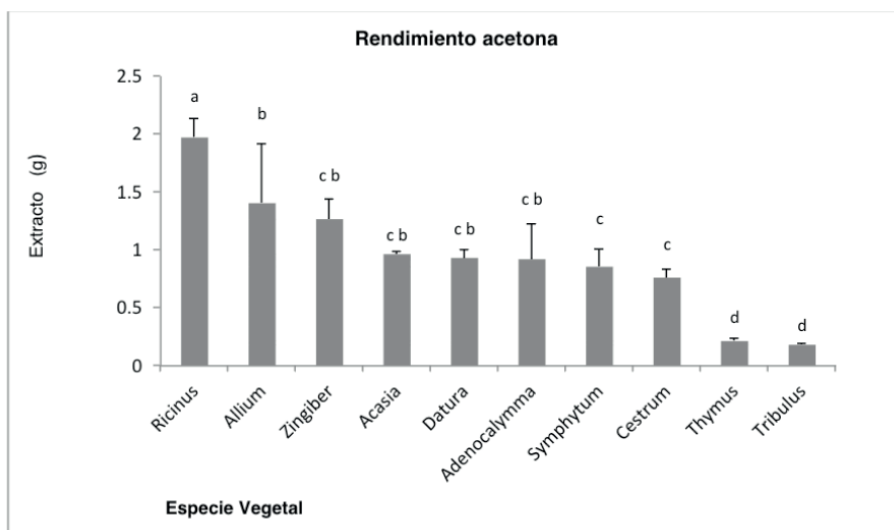



Figura 2. Rendimiento de extracción con acetona

Respecto a la eficiencia de extracción los mejor resultados con etanol, fueron expresados por las especies de *Ricinus communis, Datura ferox y Acasia farnesiana,* con 1.51g, 1.14g y 1.09g respectivamente, siendo *Tribulus terrestres con* 0.18g el resultado más bajo. Para el caso de extracción con acetona las mejores especies vegetales fueron: *Ricinus communis, Allium sativum y Zingiber officinale, con* resultados de 1.97g, 1.40g y 1.26g respectivamente, *Tribulus terrestres con* 0.18g expresó el resultado más bajo.

Especie	CEOE	CEOA¶	EPE %	EPA %
Ricinus	1.5133±0.099[a]	1.9700±0.023[a]	6.05	7.88
Datura	1.1433±0.070[ab]	0.9300±0.012[bc]	4.57	3.72
Acasia	1.0967±0.044[bc]	0.9336±0.003[bc]	4.39	3.85
Cestrum	1.0733±0.029[bc]	0.7600±0.014[c]	4.29	3.04
Zingiber	0.9733±0.012[bc]	1.2667±0.028[bc]	3.89	5.07
Symphytum	0.9633±0.095[bc]	0.8533±0.028[c]	3.85	3.41
Adenocalymma	0.9600±0.181[bc]	0.9200±0.055[bc]	3.84	3.68
Allium	0.7033±0.072[c]	1.4033±0.083[ba]	2.81	5.61
Thymus	0.2933±0.006[d]	0.2133±0.005[d]	1.17	0.85
Tribulus	0.1867±0.003[d]	0.1800±0.002[d]	0.75	0.72

Cuadro 1. Rendimiento obtenido de 25 g de materia deshidratada y 350 mL de disolvente.

Letras diferentes columnas indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey 0.05), ¶variable transformada (SQRT) CEOE = cantidad de extracto obtenido con etanol, CEOA = cantidad de extracto obtenido con acetona, EPE = Eficiencia porcentual de extracción, EPA = eficiencia porcentual de extracción. Se incluye la media ± error estándar.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos muestran que con la técnica y los disolventes evaluados en esta investigación hubo diferencia entre tratamientos, la eficiencia de extracción varía de acuerdo a la planta y el disolvente utilizado. La mayor eficiencia de extracción de biomoléculas se registró para *Ricinus communis, Datura ferox y Acacia farnesiana* con 6.5%, 4.5% y 4.3% respectivamente con etanol y acetona, *Ricinus communis, Allium sativum y Zingiber officinale* fueron los de mayor eficiencia con 7.9%, 5.6% y 5.0% respectivamente. El rendimiento de extracto más alto con etanol fue de 1.51 g y con acetona de 1.97 g por cada 25 g de planta deshidratada.

REFERENCIAS

Adirano, A. L., J. Mejia, I. Ovando, V. Albores, M. Salvador. 2018. **Effect of alcoholic extracts of garlic (*Allium sativum*) and clove (*Syzygium aromaticum*) on the development of *Mycosphaerella fijiensis* Morelet**. Revista Mexicana de Fitopatología. 36(3): 379-393.

Bruneton, J. 2001. Farmacognosia. **Fitoquimica Plantas Medicinales**. 2da edición. Acribia, S. A. 1073 p.

Dunnivant, F. M. and A. W. Elzerman. 1988. **Determination of polychlorinated biphenyls in sediments, using sonication extraction and capillary column gas chromatography-electron capture detection with internal standard calibration**. J Assoc Off Anal Chem. 71(3):551-6.

Garcia, L. G., A. Martínez, J. Ortega, F. castro. 2010. **Componentes químicos y su relación con las actividades biológicas de algunos extractos vegetales**. Revista QuímicaViva. 2: 86 – 96.

Guerrero-Rodríguez, E., S. Solís-Gaona, F. D. Hernández-Castillo, A. Flores-Olivas, V. Sandoval-López. 2007. **Actividad Biológica in vitro de Extractos de Flourensia cernua D.C**. **en Patógenos de Postcosecha: Alternaria alternata (Fr.:Fr.) Keissl., Colletotrichum gloeosporioides** (Penz.) Penz. y Sacc. y Penicillium digitatum (Pers.:Fr.) Sacc. Revista Mexicana de FITOPATOLOGIA. 25: 48-53.

Jenkins, T. F., and M. E. Walsh. 1994. **Instability of tetryl to Soxhlet extraction**. Journal of Chromarogruphy. 178-184.

Hussam, A. Q., J. Cánovas, E. Barrajón, V. Micol, J. A. Cárcel, y J. V. García. 2013. **Kinetic and compositional study of phenolic extraction from olive leaves (var. Serrana) by using power ultrasound**. Innov. Food Sci. Emerg. 17: 120-129.

Kalemba, D. y A. Kunicka (2003). **Antibacterial and antifungal properties of essential oils**. Curr Med Chem 10 (10): 13-29.

Luque-García, J. L. and Luque de Castro, M. D. 2004. **Ultrasound-assisted Soxhlet extraction: an expeditive approach for solid sample treatment Application to the extraction of total fat from oleaginous sedes**. Journal of Chromatography. 237–242.

Nicholls, C. I. and Altieri, M. A. 2012. **Modelos ecológicos y resilientes de producción agrícola para el siglo xxi**. Agroecología 6: 28-37.

Rodríguez, P. A., M. Ramirez, S. Bautista, A. Cruz, D. Rivera. 2012. **Actividad antifúngica de extractos de *Acacia farnesiana* sobre el crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici.*** Revista Científica UDO Agrícola 12 (1): 91-96. 2012

Sefidkon, F., K. Abbasi, and G. B. Khaniki. 2006. **Influence of drying and extraction methods on ngibre (Zingiber officinale)**. Revista Amazónica de Investigacion Alimentaria 1(1):38-42.

Setyaningsih, W., I. E. Saputro, M. Palma, and C. G. Barroso. 2015. **Optimization and validation of the microwave-assisted extraction of phenolic compounds from rice grains**. Food Chem. 169: 141-149.

Zulkafli, Z. D., H. Wang, F. Miyashita, N. Utsumi, and K. Tamura. 2014. **Cosolvent-modified supercritical carbon dioxide extraction of phenolic compounds from bamboo leaves *(Sasa palmata)***. J. Supercrit Fluid. 94: 123-129.

CAPÍTULO 6

PLANTAS MEDICINALES ANTIOXIDANTES: ACUÁTICAS Y TERRESTRES

Data de aceite: 02/10/2023

Shailili Mercedes Moreno Morales
Dra. en Química
Institución: Universidad Técnica Estatal de Quevedo
Dirección: Campus "La María", vía a Mocache. QUEVEDO, LOS RÍOS, ECUADOR

Haydelba Trinidad D´Armas Regnault
M.Sc. en Ciencias Marinas (mención Oceanografía Química), Ph.D. en Química
Institución: Universidad de Oriente
Dirección: Avda. Universidad, Núcleo de Sucre, Cumaná, Venezuela Escuela de Ciencias, Departamento de Química, 6101.

Camila Anabelle Vinces Manrique
Estudiante de Biología
Institución: Universidad Técnica Estatal de Quevedo
Dirección: Campus "La María", vía a Mocache. QUEVEDO, LOS RÍOS, ECUADOR

Mariela Carolina Loján Avellán
Bióloga Marina, M.Sc. en Acuicultura
Institución: Universidad Técnica Estatal de Quevedo
Dirección: Campus "La María", vía a Mocache. QUEVEDO, LOS RÍOS, ECUADOR

RESUMEN: Las plantas medicinales representan una fuente de sustancias terapéuticamente útiles, y muchas de ellas se destacan por sus propiedades antioxidantes, que actualmente tienen un aprovechamiento creciente por los beneficios asociados a su consumo. Esta investigación busca conocer las tendencias más actualizadas en el uso y aprovechamiento de algunas plantas medicinales con capacidad antioxidante. Para ello, se realizó una recolección de información sobre el aprovechamiento de plantas medicinales antioxidantes, incluyendo datos relevantes considerados en la clasificación de sus usos y aplicaciones. La revisión bibliográfica corresponde a una muestra de artículos identificados en las bases de datos Google académico, Redalyc y Scielo dentro del periodo 2008 - 2022. La búsqueda estuvo orientada a identificar familias que biosintetizan metabolitos con funciones antioxidantes, cuyos usos las convierten en materiales de provecho biotecnológico con impacto positivo en la salud. En el desarrollo se obtuvo una descripción del perfil de metabolitos secundarios de diferentes plantas, muchas de ellas distribuidas en centro y sur América, cuyos estudios recientes han reportado

actividad antioxidante significativa que tiende hacia modelos celulares, como es el caso de la Canela, la Maca, diversos frutos cítricos, la caléndula, Hierba Luisa, Moringa, entre otras, sin dejar de lado a las algas en sus diferentes tipos. Así mismo se generó una comparación de los resultados obtenidos por diversos autores en sus experimentaciones, para producir, transformar y obtener sustancias con aplicaciones antioxidantes que permitan combatir los efectos de los radicales libres y del estrés oxidativo en la salud, tanto humana como animal. De igual manera, se destacan otras aplicaciones no asociadas al área médico-farmacológica, pero con impacto industrial en la elaboración de pinturas, materiales anticorrosivos y de recubrimientos. Los resultados confirman y mejoran la proyección de plantas medicinales antioxidantes como fuente importante de metabolitos (taninos, polifenoles, flavonoides, fitoestrógenos), cuya actividad podría refinarse en sistemas biotecnológicos, para comprender su comportamiento en escenarios funcionales más reales y de mayor éxito.
PALABRAS CLAVE: Antioxidantes, Plantas medicinales, Metabolitos secundarios, Algas.

ANTIOXIDANT MEDICINAL PLANTS: AQUATIC AND TERRESTRIAL

ABSTRACT: Medicinal plants represent a source of therapeutically useful substances, and many of them stand out for their antioxidant properties, which are currently being increasingly used due to the benefits associated with their consumption. This research seeks to know the most up-to-date trends in the use and exploitation of some medicinal plants with antioxidant capacity. For this, a collection of information on the use of them was carried out, including relevant data considered in the classification of their uses and applications. The bibliographic review corresponds to a sample of articles identified in the Google academic, Redalyc and Scielo databases within the period 2008 - 2022. The search was aimed to identify families that biosynthesize metabolites with antioxidant functions, whose uses make them useful materials of biotechnological benefit with a positive impact on health. A description of the profile of secondary metabolites of different plants was obtained in the development, many of them distributed in Central and South America, whose recent studies have reported significant antioxidant activity that tends towards cellular models, as is the case of Cinnamon, Maca, various citrus fruits, calendula, Lemon verbena, Moringa, among others, without leaving aside the algae in its different types. Likewise, a comparison of the results by various authors in their experiments was generated, to produce, transform and obtain substances with antioxidant applications that allow combating the effects of free radicals and oxidative stress on health, both human and animal. In the same way, other applications not associated with the medical-pharmacological area stand out, but with an industrial impact in the elaboration of paints, anticorrosive materials and coatings. The results confirm and improve the projection of antioxidant medicinal plants as an important source of metabolites (tannins, polyphenols, flavonoids, phytoestrogens), whose activity could be refined in biotechnological systems, to understand their behavior in more real and successful functional scenarios.
KEYWORDS: Antioxidants, Medicinal plants, Secondary metabolites, Algae.

1 I INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales representan una fuente de sustancias terapéuticamente útiles, y muchas de ellas se destacan por sus propiedades antioxidantes, que actualmente

tienen un aprovechamiento creciente basado en los beneficios asociados a su consumo, incluyendo a las plantas acuícolas.

En este sentido, la medicina tradicional está directamente relacionada con el bienestar de los individuos, mediante el uso de plantas completas o algunas de sus partes. A nivel mundial se han usado diversas especies vegetales y se han reportado propiedades terapéuticas en muchas de ellas (Moreno *et al*, 2022).

El término medicina tradicional ha sido definido por la Organización Mundial de la Salud como el conjunto de conocimientos, capacidades y prácticas basados en las teorías, creencias y experiencias propias de diferentes culturas, bien sean explicables o no, utilizadas para mantener la salud y prevenir, diagnosticar, mejorar o tratar enfermedades físicas y mentales (OMS, 2013).

Debemos tener en cuenta que, la disponibilidad al consumo de infusiones de plantas es grande, sin embargo, existe poca información específica sobre la forma de preparación y los beneficios que poseen algunas plantas, especialmente por la presencia de compuestos bioactivos muy diversos. Por lo cual, algunos investigadores han evaluado la actividad antioxidante (DPPH y ABTS°+) y polifenoles totales de infusiones preparadas con plantas medicinales comerciales, frescas y secas (Gómez *et al*, 2020).

Tal es el caso del té de *Camellia sinensis*, conocido popularmente como Té verde o Té japonés, el cual contiene muchos compuestos bioactivos con efectos antioxidantes, como el ácido hidroxicinámico y derivados de flavonoides, especialmente la subclase de catequinas, flavonoides, catecoles y taninos (Lorenzo and Sichetti, 2016); en Sur América es más popular la Manzanilla, la cual posee propiedades antioxidantes, por lo que puede aplicarse en el tratamiento de los trastornos causados por el estrés oxidativo (Kolodziejczyk-Czepas *et al*., 2015).

Estudios recientes resaltan aspectos sobre los antioxidantes y la salud. Los antioxidantes pueden neutralizar el exceso de radicales libres durante la actividad oxidativa, propia del organismo. La producción de radicales libres es un evento natural, y está regulado por diferentes rutas metabólicas, porque representan la primera línea de defensa de los seres vivos. Sin embargo, aunque son relevantes para mantener la salud, el desbalance entre antioxidantes endógenos y radicales libres (estrés oxidativo) se asocia con diferentes enfermedades o con el envejecimiento humano. Existen reportes de algunas fuentes de antioxidantes exógenos, sobre todo frutas y otros vegetales (Coronado *et al*, 2015).

Es por ello que, en esta investigación se dan a conocer las tendencias más actualizadas en el uso y aprovechamiento de algunas plantas medicinales con capacidad antioxidantes, cuyo cultivo y distribución es amplio América Latina.

2 I METODOLOGÍA

Se usó una metodología descriptiva, con un enfoque documental, es decir, revisión

de fuentes disponibles en la red, cuyo contenido está actualizado y en relación directa con el tema en desarrollo.

Se realizó una recolección de información sobre el aprovechamiento de plantas medicinales antioxidantes, con la documentación del conocimiento generado por investigaciones recientes, incluyendo datos relevantes considerados en la clasificación de sus usos y aplicaciones.

La revisión bibliográfica corresponde a una muestra de artículos identificados en las bases de datos Google académico, Redalyc y Scielo dentro del periodo 2008 - 2022. La búsqueda estuvo orientada a identificar familias de plantas que biosintetizan metabolitos con funciones antioxidantes, cuyos usos las convierten en materiales de provecho biotecnológico con impacto positivo en la salud.

3 I RESULTADOS

En el desarrollo de esta revisión se obtuvo una descripción del perfil de metabolitos secundarios de diferentes plantas, muchas de ellas distribuidas en centro y sur América, cuyos estudios recientes han reportado actividad antioxidante significativa, la cual tiende hacia modelos celulares específicos, como es el caso de la Canela, la Maca, diversos frutos cítricos, la caléndula, Hierba Luisa, Moringa, entre otras, sin dejar de lado a las algas en sus diferentes tipos.

Plantas Medicinales

La práctica de la medicina tradicional se basa en el uso terapéutico de diferentes partes de plantas y en distintas formas de preparación para prevenir o curar diversas dolencias (Maldonado *et al.*, 2020). A pesar de una pérdida de saberes y de prácticas culturales en el mundo, el 90% de la población en países en desarrollo y el 60% en países desarrollados usa la medicina tradicional para su atención primaria de la salud (Vandebroek *et al.*, 2008).

Las plantas medicinales no solo se han utilizado en la antigüedad para aliviar, tratar o curar enfermedades, sino que también se les ha usado en la modernidad para crear importantes avances en la medicina, demostrando que como especies naturales tienen amplias propiedades, destacando la capacidad antioxidante.

Aunque su uso nunca ha dejado de estar vigente, el avance de la ciencia y la tecnología ayudó a que los principios activos contenidos en esas plantas sean sintetizados químicamente, haciéndolos disponibles en las farmacias a precios accesibles y en dosis adecuadas para cada tratamiento. Sin embargo, cada vez es más común la preocupación por los efectos secundarios de los medicamentos químicos y la ineficacia de algunos de ellos para su uso a largo plazo. Es por eso que el uso de alternativas naturales o terapias complementarias ha recibido una atención creciente en los últimos años. Actualmente, según la Organización Mundial de la Salud OMS (Zhang & WHO 2002) se estima que el

80% de la población mundial depende de la medicina tradicional para sus necesidades de salud, en cuanto a su atención primaria.

Son muchos los organismos vegetales que se han destacado en la producción de sustancias medicinales, y en particular los metabolitos antioxidantes, existiendo variedad en su origen, así como en su distribución en países de América Latina, ya sean plantas terrestres o acuáticas, y algunos de ellos se detallan a continuación.

Por ejemplo, en Ecuador el 80% de la población usa la medicina tradicional y hay alrededor de 3000 plantas medicinales para tratar diferentes enfermedades. El poco interés de las generaciones recientes, la migración de la gente rural a las ciudades y la actividad agrícola afectan la transmisión de los conocimientos sobre las plantas medicinales en la medicina tradicional (Fernández *et al*., 2019).

La Canela

Una de las especies más utilizadas, tanto en infusiones como en gastronomía, es la canela (*Cinnamomum verum*) la cual se obtiene de la corteza de los árboles *Cinnamomum*, llevando una importante historia en la conquista de los españoles en América, ya que los españoles se interesaron en los beneficios curativos de esta planta (Alemany, 2011).

Las canelas corresponden a las cortezas de más de 250 especies de árboles y arbustos, de la familia de las Lauraceae, que son conocidos como caneleros. La Familia Lauraceae contienen fuentes importantes de aceites esenciales: por ejemplo, en medicina se usa las hojas de *Persea lingue* para enfermedades reumáticas (Avello *et al*, 2012).

Los caneleros han sido unos de los productos de origen vegetal más utilizados como especia por su capacidad aromatizante, si bien distintas medicinas tradicionales le han atribuido diferentes actividades. Se encuentran referencias en Egipto, país donde se importaba desde China, y en la medicina Ayurvédica donde se indica como antiemético, antidiarreico, antiflatulento y estimulante (Accame, 2009).

En América, la canela ha recibido especial atención por ser una especie exótica, y por tratarse de plantas muy codiciadas en tiempos remotos, ya que tienen mucho valor como especia. Parece ser que el cultivo deliberado de plantas de canela en algunas regiones de Venezuela y en islas caribeñas no se inició hasta 1770, y está asociado a este uso su conservación y estimación como medicamentos (Lindorf, 2002).

En la actualidad, existen cultivos de canela en varias regiones tropicales del planeta, y sus aplicaciones no terminan en la cocina: sus propiedades terapéuticas incluyen su uso como antioxidante, antiinflamatorio e incluso como antimicrobiano; tal ha sido su repercusión medicinal que llegó a tener reputación como remedio contra resfriados. Estas propiedades no serían posibles sin los múltiples compuestos químicos que la constituyen: ácido cinámico, cinamaldehído, cinamato, eugenol, entre otros; siendo el cinamaldehído, el responsable de los característicos sabor y olor de la canela (Balmont, 2014).

Maca

De igual modo, la maca (*Lepidium peruvianum*) es una planta originaria de los Andes Centrales del Perú. Esta planta es perenne de la familia de las Brasicaceae que crece entre los 3800 y 4500 m.s.n.m. en regiones de puna, generalmente en los departamentos de Junín y Pasco. Fue un producto muy valioso para los Incas, debido a su elevado contenido de sustancias nutricionales y por su amplio uso medicinal, especialmente como revitalizante, y potenciador de la fertilidad (Cataño, 2008).

Esta planta representa un alimento nutritivo, energético y funcional, ya que sus metabolitos secundarios reaccionan al estrés biótico y abiótico como mecanismo de defensa durante las etapas de pre-cosecha, cosecha y secado natural post-cosecha (Yábar & Reyes, 2019).

Entre los constituyentes químicos de la maca que se han relacionado con su actividad, destacan los ácidos grasos (macaeno) y sus correspondientes amidas, glucosinolatos, alcaloides (lepidilinas A y B, macaridina), esteroles, ácido (1R, 3S)-1-metil-tetrahidro--carbolin-3-carboxílico y polifenoles. Además, se le han atribuido otras actividades como antitumoral y citostática, antioxidante e antihipoglucemiante (Cataño, 2008).

En este sentido, los glucosinolatos, compuestos fenólicos, fitoesteroles, macaenos, macamidas, macahidantoínas, meyeniinas, alcaloides y otros metabolitos de la Maca son formados durante el ciclo productivo, y actúan sinérgicamente para prevenir enfermedades crónicas, cuando es consumido como parte de una dieta variada (funcional), muy frecuente en la cultura alimentaria de Perú y no como compuestos bioactivos aislados (nutraceútico) del contexto biológico como pretende la industria farmacéutica (Yábar & Reyes, 2019).

Frutos cítricos

Los cítricos representan la mayor demanda en la industria de los alimentos, principalmente para bebidas, debido a que estos frutos tienen alto contenido de jugo para elaborar productos como néctares o zumos (Kim & Kim, 2016). Entre las variedades de cítricos empleados se encuentran las naranjas (*Citrus sinensis*), mandarinas de diferentes especies (*C. unshi*, *C. tangerine*, *C. reticulate*, *C. clementine*), limones (*C. limon*), limas (*C. aurantifolia/latifolia*), toronjas (*C. paradisi*) y pomelos (*C. grandis*) (Chavan, Singh & Kaur, 2018).

Los frutos cítricos también se destacan en el área nutricional, ya que benefician de gran manera la salud humana, fundado en las propiedades antioxidantes y antiradical de sus diversos componentes, como el ácido ascórbico, los flavonoides, carotenoides, antocianinas, los derivados del ácido cinámico, entre otros (Domínguez y Ordoñez, 2018).

Una planta de este grupo es la *Vaccinium floribundum,* también conocida como mortiño o agraz silvestre; esta planta da un fruto cítrico que tiene un gran parentesco al fruto rojo del arándano, además contiene polifenoles en su composición con excelente capacidad antioxidante, son inhibidoras de enzimas, sin ser bactericidas constituyen

características propias de la fruta (Reyes, 2017).

El mortiño es una planta nativa de los páramos andinos en su mayoría distribuida en Colombia, Perú, Ecuador y Venezuela entre 1.400 y 4.350 msnm. El género Vaccinium es un frutal perenne de la familia de las Ericáceas y posee un gran potencial agroindustrial por sus propiedades físico-químicas (Arcos-Torres, *et al* 2022).

Otros frutos antioxidantes son los del género Citrus, pertenecientes a la familia Rutaceae, como la toronja (*Citrus máxima*) y la naranja (*Citrus sinensis*), la toronja es una fruta con sabor amargo que contiene vitaminas C y A, fósforo, hierro, niacina, pectina; la toronja es antihemorrágico estomacal y depurativo, se la recomienda para enfermedades del hígado, próstata y riñones, promueve la eliminación de líquidos y se recomienda consumirla cuando se quiere bajar de peso. Estas especies de plantas conocidas por sus poderes curativos antioxidantes, son cítricos que compensan su actividad biológica, por la presencia de fenoles; entre ellos, los flavonoides, metabolitos secundarios que se oxidan fácilmente, por lo que constituyen potentes antioxidantes. En esta Familia se encuentran también: naranjo agrio (*Citrus aurantium* L.), limón criollo (*Citrus aurantiifolia*), lima persa (*Citrus latifolia*), mandarina (*Citrus reticulata*) (Ojito *et al*, 2012).

En el caso de la naranja (*C. sinensis*), esta tiene alto contenido de ácido ascórbico y ácido cítrico que ayuda a depurar los tejidos. En el zumo de naranja se encuentra grandes propiedades beneficiosas para la salud humana por ser microbicida, refuerza las defensas inmunes, y mejora las enfermedades de las mucosas. Las plantas del género Citrus están recibiendo mucha atención por sus propiedades nutritivas y biológicas. Las flavanonas, flavonas y flavonoles son los flavonoides presentes en los cítricos. Aunque las flavonas y los flavonoles se han encontrado en bajas concentraciones en comparación con las flavononas, han mostrado ser potentes antioxidantes, secuestradores de radicales libres o agentes que contribuyen a la acción anticancerígena y cardioprotectora, entre otras. (Mite *et al*, 2022).

Dentro de este mismo género están la mandarina (*Citrus nobilis*) y el limón (*Citrus limonium*). La primera fortalece los huesos, tejidos y dientes, abunda su contenido de fósforo, en su pulpa se concentra el ácido oxálico que arrastra sustancias nocivas que se hallan en la sangre, pudiendo combinarse con elementos tales como el plomo, cadmio y mercurio, convirtiéndose la mandarina en la fruta ecológica o descontaminadora del organismo de los humanos, su parte alcalina es recomendada para las enfermedades del corazón (Romero *et al*, 2021).

Mientras que el limón (*C. limonium*) previene el escorbuto, el cansancio y molestias reumáticas; en el libro *Frutoterapia* se denomina la fruta de mil usos. Se considera el jugo de limón depura el hígado, purifica la sangre. Por su alto nivel de sustancias vitales, ácidos, poder bactericida, enzimas y vitaminas, contribuye a eliminar y quemar desechos retenidos en el organismo. Es favorable para la hipertensión, en las enfermedades cardiovasculares activando la circulación sanguínea, reduce la grasa que ocasiona obesidad, enfermedades

del hígado y la vesícula biliar, previene formación de cálculos, diabetes, enfermedades intestinales, de los pulmones y genitales, en las congestiones y dolores de cabeza. Es anticoagulante y diurético, por lo tanto, se utiliza para almacenar la sangre destinada a transfusiones (Romero *et al*, 2021).

En general, los principales compuestos bioactivos que se han reportado en los frutos cítricos son los flavonoides, flavonoles, antocianinas, flavonas, flavanonas, carotenoides, cumarinas así como limonoides. Entre los flavonoides, se encuentran la hesperidina, narirutina, naringina y eriocitrina (Nakajima, Macedo & Macedo, 2014), cuyas estructuras químicas se aprecian en la Ilustración 1. Es importante destacar que no todos los compuestos mencionados están presentes en todos los cítricos, sino que ellos varían entre sí, e inclusive puede haber otros compuestos de interés con capacidad antioxidante diferente.

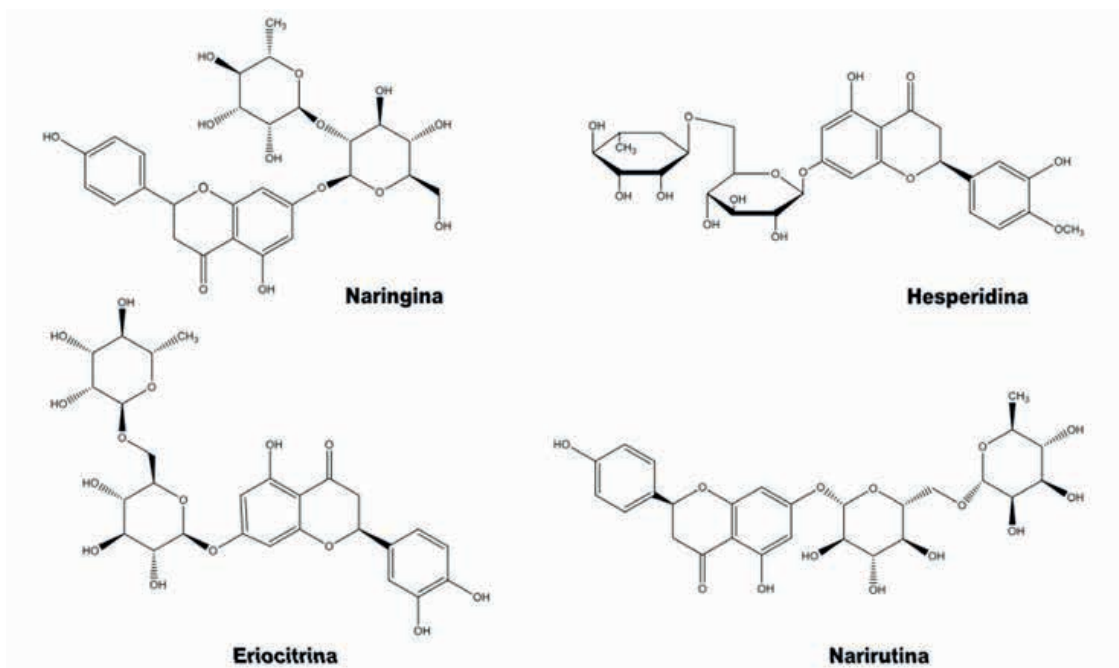



Ilustración 1. Estructuras químicas de los principales compuestos de los cítricos. Compuestos fenólicos tipo flavanonas (Wong *et al*., 2020).

Caléndula

Otra de las plantas medicinales destacadas es la caléndula (*Calendula officinalis*), la cual pertenece a la familia Asteraceae y es originaria de Europa, aunque está aclimatada en la región sur de Brasil, donde su cultivo comercial ha ido en aumento para productos farmacéuticos y con fines cosméticos (Yanaisy, 2021).

Esta planta se utilizaba en la antigüedad como planta ornamental para decorar,

y en la medicina natural la usaban porque atribuye ventajas en el cuidado de la piel. Actualmente beneficia a la medicina dermatológica como antibacteriana, antiinflamatoria y hasta cicatrizante porque ayuda a combatir las quemaduras de la piel, desinflama y calma el dolor, incluso ayuda a recuperar y regenerar la piel. También aplaca las picaduras de insectos, mejora las afecciones cutáneas, y se usa en casos de acné. La infusión de la caléndula es recomendada para tratamientos de afecciones digestivas como la gastritis, dolores estomacales, úlcera, epistaxis, dismenorrea y amenorrea (Gómez y Lazo, 2022).

Con respecto a los reportes de la capacidad antioxidante de *C. officinalis*, algunas investigaciones previas indican la presencia de un contenido significativo de compuestos fenólicos y de flavonoides en los extractos de diferentes partes de la planta (Ojeda *et al*, 2020).

Además, se incluyen trabajos sobre la caracterización preliminar del aceite esencial de flores frescas y secas de caléndula, el cual fue obtenido mediante dos métodos: hidrodestilación (HD) e hidrodestilación asistida, señalando que la composición química de cada una de las fracciones ricas en sustancias fenólicas, le confieren actividad antioxidante significativa (Torres *et al*, 2018).

Hierba Luisa

En el mismo orden de ideas, la hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*) es una planta originaria de la India, pertenece a la familia Poaceae y es fácilmente adaptada a las regiones tropicales (De Lima, 2014). Aunque otros autores la ubican dentro de la familia Verbenaceae, que son un grupo de plantas caracterizadas por ser aromáticas, las más comunes pertenecen a los géneros Aloysia. Duranta, Lantana, Lippia, Petrea, Phyla, Verbena, entre otros. Extractos obtenidos de *Lippias*, poseen actividades antibacterianas, antinflamatorias, antivirales, antifúngicas, y antioxidantes, esta última actividad biológica es la más estudiada, ya que con sus propiedades ayuda al mejoramiento de la salud de los humanos (Stashenko *et al*, 2014).

La *C. citratus* también se destaca por su infusión tranquilizante y porque su acción antioxidante ayuda a prevenir arterosclerosis, y en consecuencia los efectos posteriores de esta enfermedad; además es antiinflamatoria, antimicrobiana, y antifúngica contra hongos como *Cándida albicas*, también se ha demostrado que es efectiva para tratar el acné, abrir los poros, curar la sarna y el pie de atleta (Pascal y Maritsa, 2015).

Investigaciones previas indican que las infusiones preparadas con esta planta medicinal tienen buen contenido de fenoles totales y reportan actividad antioxidante medida frente al radical DPPH y frente al radical $ABTS^{\circ +}$(Gómez *et al*, 2020).

De igual manera, los extractos de *C. citratus* en solventes polares, específicamente agua y etanol, tienen actividad antibacteriana y capacidad antioxidante destacable; con el alcohol como solvente se logra extraer un mayor contenido de metabolitos secundarios de esta planta, que repercuten en su porcentaje de inhibición de los radicales libres; además,

se reporta también actividad antibacteriana para extractos de hierba luisa, la cual aumenta en relación a la concentración del mismo (Culqui *et al*, 2021).

Moringa

La moringa (*Moringa oleífera*) es una planta perteneciente a la Familia Moringaceae, nativa de la India y ampliamente cultivada en las regiones subtropical y tropical de todo el mundo; esta especie es de rápido crecimiento, y es capaz de soportar largos períodos de sequía, por lo cual se le concedió gran importancia en la alimentación animal en las dietas de vacunos, cerdos, aves y peces (Cortes, 2016).

Esta planta se consume casi completa, es decir, los consumidores usan sus hojas, la flor y raíces, y se ha establecido que al consumir las hojas de la moringa evita enfermedades oculares y de digestión, mientras que en la ingesta de las flores aumenta la producción de espermas en los hombres, y en la infusión de raíz de moringa es aconsejable para tratar el reumatismo, la ascitis, picaduras venenosas, y la diabetes (ayuda a disminuir la glucosa en la sangre). Se ha determinado que en las semillas de moringa contiene una alta concentración de actividad antioxidante al haber analizado su composición química (Estrada *et al*, 2016).

Otros autores reportan que la moringa posee vitaminas y minerales como hierro, carotenoides, quercetina, vitamina C, polifenoles, ácido clorogénico, entre otros, que le confieren propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. Además, tiene un contenido de proteínas de alrededor del 30%, lo que la hace de interés en el desarrollo de diversos alimentos funcionales. El polvo de las hojas de moringa presenta un contenido de proteínas de 398.287 mg/mL, la fracción mayoritaria fue la fracción de albúminas con un 67%, seguido de prolaminas (12%) y globulinas (13%) y en menor cantidad las glutelinas con un 8%. El contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante fue de 19.88 ± 4.75 mgEAG/100 g y ± 4.75 E-Trolox. Estudios que dan a las proteínas y péptidos bioactivos presentes en la hoja de moringa aplicabilidad en matrices alimentarias (Antonio-Alegría *et al*, 2021).

Adicionalmente, las propiedades antioxidantes de esta planta benefician también a la industria bananera, en donde se han utilizado los extrantos de *M. olifera* para reducir el estrés oxidativo durante la micropropagación en sistemas de inmersión temporal, como alternativa para obtener plantas de banano, así como sistemas convencionales semisólidos de vitroplantas de banano enraizadas (Castillo *et al*, 2019).

Con base en esta revisión, se hace evidentemente notoria la relación que existe entre la concentración de metabolitos, cuya estructura química les permita ser clasificados como antioxidantes, y la actividad biológica exhibida por las plantas que los producen, por lo cual son utilizadas como plantas medicinales y, en Latinoamérica se vienen popularizando desde hace muchos años, incluso en otras aplicaciones no médicas. De allí la importancia de describir con más detalle a este grupo de sustancias llamadas Antioxidantes.

Antioxidantes

Los alimentos de consumo diario contienen antioxidantes, sustancias que impiden la producción de daño tisular causado por radicales libres, lo cual se lleva a cabo mediante la reducción o eliminación de los mismos; además, los antioxidantes favorecen la disminución del riesgo de enfermedades cardiovasculares, inflamatorias, neurodegenerativas (Parkinson y Alzheimer), hepáticas (cirrosis), diabetes tipo 2 e incluso cáncer (Coronado *et al*., 2015; Fonseca-García *et al*., 2014; Pérez-Hernández *et al*., 2013).

Los antioxidantes son compuestos que protegen a la célula del organismo, interactúan con radicales libres logrando neutralizarlos para evitar daños en un organismo. Los radicales libres son átomos de electrones desapareados en su estructura, estos se liberan durante el metabolismo humano, y también se producen por contaminantes ambientales, radiaciones (ejemplo: ultravioleta, gamma), entre otros, estos se producen cuando se da la respiración celular quedando moléculas residuales originando los radicales libres. Un radical libre puede afectar un millón de moléculas durante la reacción o construcción de una cadena, estos compuestos que se forman, son conocidos como *"especies reactivos del oxígeno"* (ERO). Existen dos vías esenciales para resguardar al organismo de los radicales libres; enzimáticos y no enzimáticos (endógenos y exógenos) y su interacción puede ser intracelular o extracelular (Coronado *et al,* 2015), como se aprecia en la Ilustración 2.

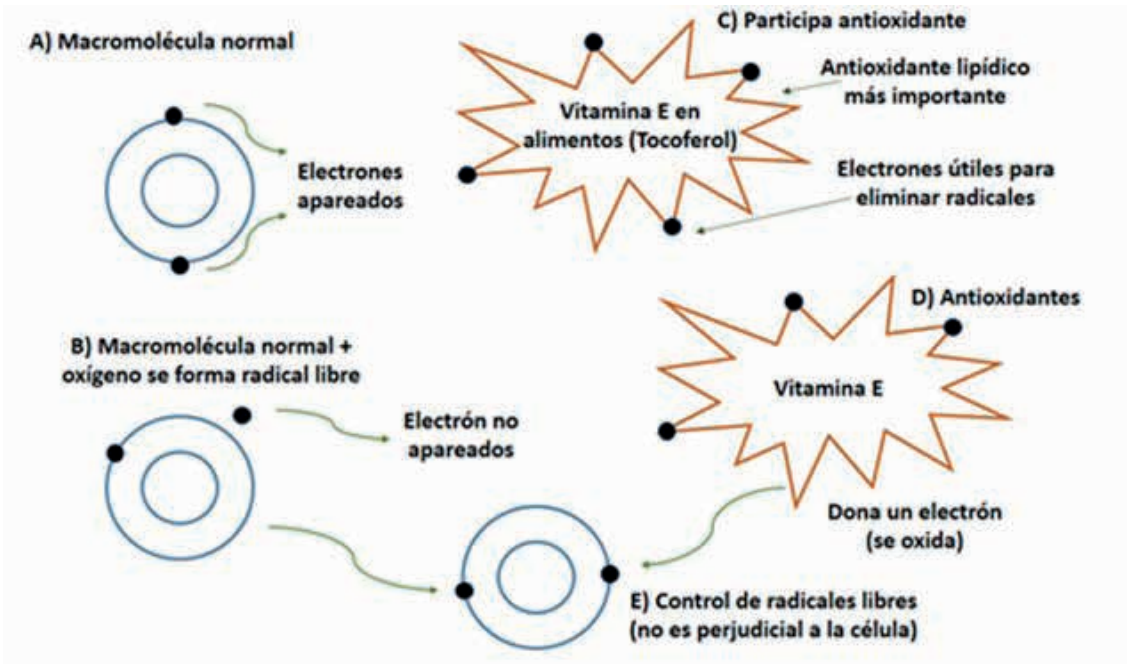



Ilustración 2 Interacción entre los radicales libres y los antioxidantes (Coronado et al, 2015)

Muchas de las plantas medicinales conocidas poseen aceites esenciales, alcaloides

y polifenoles con función antioxidantes que son consumidos en los alimentos. La función antioxidante es un proceso de óxido-reducción (proceso cotidiano en el organismo humano) que consiente en la oxidación, la cual implica pérdida de electrones de hidrógeno con la ganancia de oxígeno en la molécula, y la reducción que significa ganancia de electrones de hidrógeno con la pérdida de oxígeno (Coronado *et al*, 2015).

El estrés oxidativo se origina al romperse el equilibrio entre los mecanismos de defensa antioxidante y la producción de especies reactivas del oxígeno, lo que lleva a una complejidad de cambios fisiológicos y bioquímicos que incitan el deterioro y muerte celular; este ha sido uno de los causantes de enfermedades como el cáncer, diabetes y artritis (San-Miguel y Martin-Gil, 2009).

Al consumir plantas medicinales, ingresan antioxidantes por el organismo produciendo la metabolización y permitiendo un bloqueo a las acciones de los radicales, por lo tanto, pueden ocasionar una posible reducción del riesgo de contraer este tipo de enfermedades, ya que estas plantas tienen altos niveles de fuentes antioxidantes (Reyes, 2017).

Determinación de la capacidad antioxidante

La determinación de la capacidad antioxidante es útil para valorar la calidad de un alimento o material nutracéutico, la cantidad de antioxidantes presentes en un sistema, o la biodisponibilidad de compuestos antioxidantes en el cuerpo humano. Los métodos disponibles realizan la determinación del efecto potencial de las sustancias antioxidantes, presentes en los alimentos y en el organismo humano, contra las reacciones de oxidación. Algunas investigaciones comparan los resultados de la detección de la capacidad antioxidante total (CAT) en muestras de alimentos y plasma humano, mediante la quimioluminiscencia por fotosensibilización (PCL), en contraste con métodos que cuantifican la capacidad de absorbancia del radical de oxígeno (ORAC) y el poder antioxidante reductor del hierro (FRAP) (Benítez *et al*., 2020).

Para determinar la capacidad antioxidante de una especie, se pueden utilizar diversos métodos experimentales, uno de los métodos más empelados es el DPPH (siglas del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo) que se basa en dar estabilidad al radical (Coronado *et al*, 2015), y permite medir la actividad captadora de radicales libres de una sustancia, siempre que dicha sustancia contenga grupos OH en su estructura química, como por ejemplo los polifenoles de las plantas, los cuales reaccionan con el DPPH reduciéndolo a 2,2-difenil-1-pricril hidracina, y esta acción antioxidante de los grupos -OH decoloran al reactivo DPPH (Echavarría *et al*, 2009).

Generalmente los extractos de agua muestran mayor actividad antioxidante que los extractos de etanol y metanol, tanto en la determinación por DPPH como en la cuantificación del poder antioxidante reductor del hierro (FRAP). Lo anterior pudo deberse a que el agua tiene mayor polaridad que el etanol y metanol, y así puede actuar como mejor secuestrante

de radicales en comparación de los solventes con menor polaridad (Jaisan *et al.*, 2015).

Además, existen otros modelos de evaluación del efecto antioxidante, como la estrategia propuesta en 2008, para calcular la actividad antioxidante (Φ) de compuestos y extractos como inhibidores de peróxidos y de diferentes especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBA), asociadas a la capacidad inhibitoria del isoespintanol sobre la peroxidación lipídica de mantequilla, comparando contra BHT (Butil hidroxi tolueno); haciendo seguimiento del deterioro oxidativo, y monitoreando la velocidad de aparición de peróxidos con el método FOX (valor de peróxidos) y la capacidad de los compuestos oxidados para reaccionar con el ácido tiobarbitúrico (valor TBARS). En este trabajo se evalúa la actividad antioxidante (Φ), definida como la pendiente de la regresión simple lineal de φo /φi contra la concentración µM, en un modelo de inhibición de la peroxidación lipídica de mantequilla a 60ºC, donde φi es el efecto de cada concentración del isoespintanol y φo es el control. (Rojano & Gaviria, 2008). Tal modelo es práctico y aplicable a extractos de especies vegetales.

De igual manera, es común en estas líneas de investigación la determinación de la Actividad inhibidora del radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6 sulfonato de amonio (ABTS•+). En este método se utiliza una curva de calibración de Trolox como estándar y los resultados se expresan generalmente como capacidad antioxidante en *µ*mol de equivalentes Trolox (TE)/g de EEP (TEAC). Los valores de los resultados se expresan como la media de tres réplicas y se usa como referencia el BHT (Palomino *et al.*, 2009).

Metabolitos con funciones antioxidantes

Los metabolitos son sustancias o moléculas producidas por el metabolismo de un organismo vivo. Es importante conocer que existen dos tipos de metabolitos, los primarios que implementan el desarrollo, y los secundarios que son fundamentales las defensas ante patógenos (García & Carril, 2011).

En el reino vegetal existe un grupo de metabolitos secundarios conocidos como compuestos fenólicos (taninos, flavonoides, entre otros.), a los que se le atribuyen propiedades farmacológicas de interés, dentro de las cuales se encuentran principalmente la antiinflamatoria, antiséptica, cicatrizante y antioxidante de la gran mayoría de las plantas (Rotta *et al*, 2017).

No obstante, la calidad y cantidad de compuestos clasificados como metabolitos secundarios, producida por las plantas medicinales está muy condicionada a factores bióticos y abióticos relativos a los lugares donde se cultivan y cosechan (Ojeda *et al*, 2020).

Las plantas son ricas en antioxidantes, enzimas, glutatión, moléculas de naturaleza fenólica y vitaminas, que previenen tanto la auto-oxidación de los triglicéridos insaturados (Nieto, Ros & Castillo, 2018), como prueba de su efectividad contra el estrés oxidativo en los seres vivos (El-Hadary, Elsanhoty & Ramadan, 2019), que igual controlan y reducen el daño oxidativo en alimentos, causado por especies reactivas de oxígeno, incrementado así

la vida de anaquel y calidad del producto (Altemimi *et al.*, 2017).

Una de las familias de plantas que más metabolitos secundarios aporta (Ilustración 3) es la familia Asteraceae, la cual está caracterizada por sus flores, poseer flavonoides, alcaloides, terpenos, triterpenos y algunos ácidos grasos, por lo tanto, conllevan actividad antioxidante, en mayor proporción en sus extractos. De allí que, a diversas especies de a Asteraceae se les viene utilizando en la industria farmacéutica para contrarrestar enfermedades cutáneas, en tratamientos des inflamatorios, antihemorrágicos, anticonceptivos, e incluso en la prevención del cáncer estomacal (Gómez, 2017). Morfológicamente estas plantas son herbáceas y arbustivas (Catro y Sosoranga, 2020).

En este punto debemos destacar que, una de las especies ampliamente utilizada en medicina tradicional, *Calendula officinalis* pertenece a la Familia Asteraceae (Gómez, 2017).

Familia	Nombre comunes	Especie	Parte utilizada	Metabolitos Secundarios
ASTERACEAE	Charpa	*Flourensia* sp.	Hojas, Tallos y Flores.	Antraquinonas, Flavonoides, Lactonas sesquiterpénicas, Taninos y Alcaloides.
	Chilca	*Baccharis latifolia* (Ruiz & Pav.) Pers.	Hojas, Tallos y Flores.	Flavonoides, Lactonas sesquiterpénicas, Taninos, Alcaloides.
	Escorzonera	*Perezia multiflora* (Humb. & Bonpl) Less.	Hojas, Tallos y Flores.	Antraquinonas, Flavonoides, Lactonas sesquiterpénicas, Taninos y Alcaloides.
	Huarwash	*Aristeguietia discolor* (D.C.) R.M. King & H. Rob.	Hojas, Tallos y Flores.	Antraquinonas, Flavonoides, Lactonas sesquiterpénicas, Taninos y Alcaloides.
	Karamati	*Jungia paniculata* (D.C) A. Gray.	Hojas, Tallos y Flores.	Antraquinonas, Flavonoides, Lactonas sesquiterpénicas, Taninos y Alcaloides.
	Llumlla	*Mutisia acuminata* Ruiz. et Pav.	Hojas y Tallos.	Antraquinonas, Flavonoides, Taninos y Alcaloides.
	Marco	*Ambrosia arborescens* Mill.	Hojas y Tallos	Antraquinonas, Flavonoides, Lactonas sesquiterpénicas, Taninos y Alcaloides.
	Packlash	*Baccharis tricuneata* (L.F) P.	Hojas, Tallos y Flores	Flavonoides, Lactonas sesquiterpénicas, Saponinas, Taninos y Alcaloides.
	Panas	*Hypochaeris taraxacoides* (Meyen & Walp) Ball.	as, Tallos, Flores. Y F	Antraquinonas, Flavonoides, Lactonas sesquiterpénicas, Taninos y Alcaloides.
	Shequia	*Ophryosporus peruvianus* R.M. King & H. Rob.	Hojas, Tallos y Flores.	Flavonoides, Lactonas sesquiterpénicas, Saponinas, Taninos y Alcaloides.

Ilustración 3 Familia Asteraceae (Alvarado, 2017)

Las plantas con propiedades antioxidantes de la Familia Asteraceae se encuentran distribuidas por todo el mundo, excepto en la Antártida, comprendiendo aproximadamente 200.000- 300.000 especies, la gran mayoría se ubican en América Latina, especies nativas de México, situadas en zonas subtropicales, templadas y cálidas (Gómez, 2017).

La caléndula es originaria del sur de Asia (Egipto), trasladada para ser cultivada principalmente en Europa con fines económicos, pero en la actualidad se siembra a nivel mundial, porque esta planta puede resistir diferentes tipos temperaturas, y crece en suelos ricos en minerales y materia orgánica (Gómez y Lazo, 2022).

Por su parte, las plantas de la Familia Lamiaceae sintetizan grandes cantidades de polifenoles antioxidantes, plantas comúnmentes utilizadas y que pertenecen a este grupo son las siguientes: romero, orégano y tomillo; siendo la mayoría de estos consumidos en diferentes alimentos y como condimentos de cocina. Además, se ha reportado que los polifenoles del romero impiden el crecimiento de bacterias Gram positivas y negativas, y algunas levaduras. Todas las especies de esta familia contiene aceites esenciales en sus hojas, y son usadas en la medicina popular como antigripal, digestivo, espasmolítico, diurético, antiséptico, cicatrizante y repelente de insectos (Salas *et al*, 2013).

Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos (Ilustración 4) son metabolitos secundarios de las plantas, y muchos de ellos se concentran en los frutos, con funciones fisiológicas distintas. Estos compuestos naturales tienen caracteres antioxidantes fundamentales para combatir enfermedades derivadas por el estrés oxidativo, además de la acción antioxidante se le adiciona propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, antimicrobianas y antialérgicas, entre otras; dependen del genotipo de la especie, así como de la composición del suelo, distribución geográfica y entornos ambientales (Valencia, 2017).

Estilbenos, antraquinonas	$C_6 - C_2 - C_6$
Flavonoides, isoflavonoides	$C_6 - C_3 - C_6$
Lignanos, neolignanos	$(C_6 - C_3)_2$
Biflavonoides	$(C_6 - C_3 - C_6)_2$
Ligninas	$(C_6 - C_3)_n$
Taninos condensados (proantocianidinas)	$(C_6 - C_3 - C_6)_n$

Ilustración 4 Clase y estructura de algunos compuestos fenólicos en plantas (Castro-Restrepo et al, 2013)

Los Flavonoides

Los flavonoides (compuestos C6 C3 C6) son derivados de aminoácidos aromáticos; pigmentos que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes; los

seres humanos no pueden producir estas sustancias químicas protectoras, por tal razón consumen alimentos que aportan antioxidantes (Castro-Restrepo *et al*, 2013).

Este tipo de compuesto tiene propiedad asociada para la disminución de enfermedades cardiovasculares en los seres humanos. Son necesarios para el desarrollo de las plantas que los producen; en ellas pueden portarse como señaladores químicos, y tiene efectos sobre algunas enzimas ligadas a la fisiología y metabolismo del vegetal. Se encuentra con mayor proporción en frutas, verduras, té y vino (Valencia, 2017).

Estructuralmente, los flavonoides están compuestos de dos anillos fenilos, ligados mediante un anillo pirano. En la actividad antioxidante, los flavonoides son efecto de una combinación de sus propiedades quelatantes de hierro y de radicales libres, además de la inhibición de las oxidasas: lipooxigenasa, ciclooxigenasa, mieloperoxidasa y la xantina oxidasa; impidiendo así el desarrollo de especies reactivas de oxígeno y de hidroxiperóxidos orgánicos. Asociado a esto, se ha visualizado que asimismo inhiben enzimas implicadas indirectamente en los procesos oxidativos, como la fosfolipasa. La estabilidad o equilibrio redox del compuesto radical formado por el flavonoide original es lo que determina la acción antioxidante (Jiménez *et al*, 2009).

Los Taninos

En el caso de los taninos, éstos son compuestos que están distribuidos en alimentos de origen vegetal; los vegetales y frutas tiene la capacidad de acumular taninos en toda la planta (fruta, semilla, tallo, raíz, hojas). Estas sustancias poseen un elevado peso molecular, y presentan suficientes grupos hidroxilo unidos a estructuras fenólicas, lo cual les conceden la peculiaridad de formar complejos con proteínas, minerales y otras macromoléculas (Vázquez *et al*, 2012).

Debido a su naturaleza química, los taninos se convierten en una fuente natural de compuestos orgánicos, con la capacidad de curtir la piel, ya que son compuestos de polifenoles capaces de adherirse a las proteínas de colágeno de las pieles de los animales y realizar el proceso de curtido, otorgándoles características naturales como la flexibilidad y suavidad, principales características como curtiente vegetal en el proceso de transformación de la piel en cuero (Paz-Díaz *et al*, 2021).

Estos compuestos también son muy utilizados en la producción de colorantes, polímeros, fungicidas y bebidas, en la detección de proteínas y alcaloides en laboratorio, en la industria farmacéutica, en el tratamiento de agua y como adhesivos para la producción de tableros aglomerados de madera (Gonçalves *et al*., 2008; Gonçalves *et al*., 2017; Kim *et al*., 2007; Mori *et al*., 2003; Rahman *et al*., 2014; Vieira *et al*., 2014)

Los taninos producidos de forma natural a partir de metabolitos secundarios en vegetales pueden ser encontrados en corteza, hojas, duramen y raíces de los árboles, esta familia de compuestos se puede dividir en dos grandes grupos, los hidrolizables y los condensables (Volz y Clause, 2001; Zhou y Du, 2019).

Se ha estudiado la actividad antioxidante de los taninos condensados *in vitro,* demostrando que neutralizan el radical libre hidroxilo, por lo que pueden ser secuestradores de radicales libres que inhiben la oxidación de tejidos, también han confirmado que tienen la capacidad de evitar la oxidación de lipoproteínas de baja densidad y por ello impide la formación de trombosis en individuos con padecimientos cardiacos. Los taninos hidrolizados se estructuran con porciones de glucosa y poliol, y existen estudios de que tienen cierta actividad anticancerígena y antioxidante (Vázquez *et al*, 2012).

Los Fitoestrógenos

Otro grupo de metabolitos es el de los Fitoestrógenos, compuestos que antagonizan la acción de esteroides endógenos en el cuerpo humano. Estos son moléculas no esteroideas que se encuentran unidos a grupos oxo, ceto, hidroxi o ésteres. Están compuestos por isoflavonas y lignanos (Leyva *et al*, 2011).

Las isoflavonas se centran en la actividad anticancerígena, reducen el riesgo del cáncer de mama; las acciones de estos compuestos actúan como inhibidor de enzimas que participan en el metabolismo de los esteroides, y en el estímulo de la globulina que enlaza las hormonas sexuales. Los lignanos (C6 C3) son parte del sistema de defensa química de la planta y se consideran como metabolitos secundarios del duramen en los árboles (Mayor, 2010); son oligómeros que resguardan a la planta de patógenos y actúan como antioxidantes (Leyva *et al*, 2011). Estos compuestos antioxidantes vegetales han sido determinados para resistir antes infecciones virológicas, bacterianas y fúngicas y los podemos obtener a partir de diversos alimentos (Ilustración 5).

Alimento	µg/100 g
Leche de soya	2957.2
Frijol de soya	103920
Tofu	27150.1
Lentejas	36.5
Alfalfa brote	441.4
Ajo	603.6
Brócoli	94.1
Arándanos	17.5
Semilla de girasol	216.0

Ilustración 5 Alimentos concentrados de fitoestrógenos

El tipo de metabolitos y la cantidad de ellos producidos por una especie depende de sus condiciones ambientales. La distribución geográfica de una especie también depende de la acción de factores ecológicos (biótico o abiótico) e históricos (conquistas, economía, política), con relación al medio terrestre, y en este caso la vida vegetal. Cultivos como

el de la Caña de azúcar, son afectados por condiciones ambientales y diversos factores biológicos, que afectan el desarrollo del vegetal, y por consiguiente ocasionan importante influencia en sus metabolitos (Tobon *et al*, 2015).

La ciencia que estudia la distribución geográfica de plantas se llama Fitogeografía o también conocida como Geobotánica, tratan de conocer el origen, adaptación y evolución del reino vegetal. Gracias a este estudio se ha logrado identificar el surgimiento y localidad, de diversas especies de plantas a nivel mundial. Las plantas medicinales se han distribuido con mayor frecuencia a causa de los beneficios curativos que brinda (Katinas *et al*, 2022).

Por ejemplo, la moringa (*Moringa oleifera Lam.*) es un árbol originario del sub Himalaya, pertenece a la familia de las Moringaceae, se localiza distribuida en todo el mundo, primordialmente en las regiones tropicales y subtropicales. Las hojas de esta planta han sido utilizadas en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, infecciosas, desordenes gastrointestinales, cardiovasculares y hematológicas (Más Toro *et al*, 2017). Se distribuye en países como Grecia, Egipto, Pakistán, Nigeria, China, México, Guatemala, Colombia, Venezuela, Cuba, entre otros países con clima tropical seco (Estrada *et al,* 2016).

Las plantas que producen metabolitos antioxidantes, no solo exhiben propiedades medicinales, también se destacan en otras aplicaciones no asociadas al área médico-farmacológica, pero con impacto industrial en la elaboración de pinturas, materiales anticorrosivos y de recubrimientos. Los inhibidores verdes son una alternativa amigable para el medio ambiente, ya que nos permiten disminuir ciertos problemas que están afectando nuestro planeta, mediante el uso excesivo de los productos químicos sintéticos.

Existen investigaciones en las que se comparan los inhibidores verdes a base de frutas (aguacate y manzana verde) versus los inhibidores tradicionales de corrosión de metales (Agraje *et al*, 2019). También se ha investigado el potencial de los taninos de la corteza de Pinus spp para la elaboración de adhesivos térmicamente tratados (Goncalves *et al.*, 2021).

De igual manera, el jugo de albaricoque actúa como un inhibidor de la corrosión del acero suave con una eficacia de inhibición máxima al 75% a 30°C y el nivel máximo de concentración del inhibidor (Aprael *et al*, 2013). En estudios realizados en el 2016, se indica que la cáscara de la nuez de la India (*Anacardium occidentale*), es efectiva para el tratamiento superficial de metales, ya que su aceite obtenido, protege los metales de la corrosión (García *et al*, 2016).

Potencial antioxidante de las Algas

Además de las plantas terrestres, las especies vegetales de origen acuícola también se destacan como productores de antioxidantes, y muchas de esas son ampliamente utilizadas en la alimentación humana y de animales, así como en áreas médicas y farmacológicas, ya que presentan una variedad de metabolitos con actividad biológica diversa.

Las algas son organismos talófiltos (tienen tallo, hojas y raíz) (Turmo, 2016) son eucariotas fotosintéticos que se encuentran distribuidas en varios hábitats, en suelos húmedos, ríos, lagos, y océanos (Beatriz Alves de Aguiara, 2022).

Estas especies vegetales tienen características únicas que las diferencian de otros organismos vivos, poseen una gran capacidad de adaptación a las condiciones ambientales, siendo capaces de producir una gran cantidad de sustancias biológicamente activas; su fácil adaptación al medio permite su rápido crecimiento, y la manipulación de las condiciones en las que se cultivan pueden permitir, así mismo, la producción a gran escala de determinados compuestos. Estos organismos fotosintéticos poseen estructuras reproductivas simples y pueden existir en forma de organismos unicelulares microscópicos, o de organismos multicelulares de gran tamaño (Ibáñez y Herrero, 2017).

Como su diversidad es extensa, las algas se clasifican según su tamaño, en macroalgas (Ilustración 6) como las algas pardas y microalgas como el fitoplancton (Beatriz Alves de Aguiara, 2022). Una característica destacable de las algas es que contrarrestan la formación de radicales libres que provocan oxidación, gracias a que poseen compuestos antioxidantes (Melo, 2019).

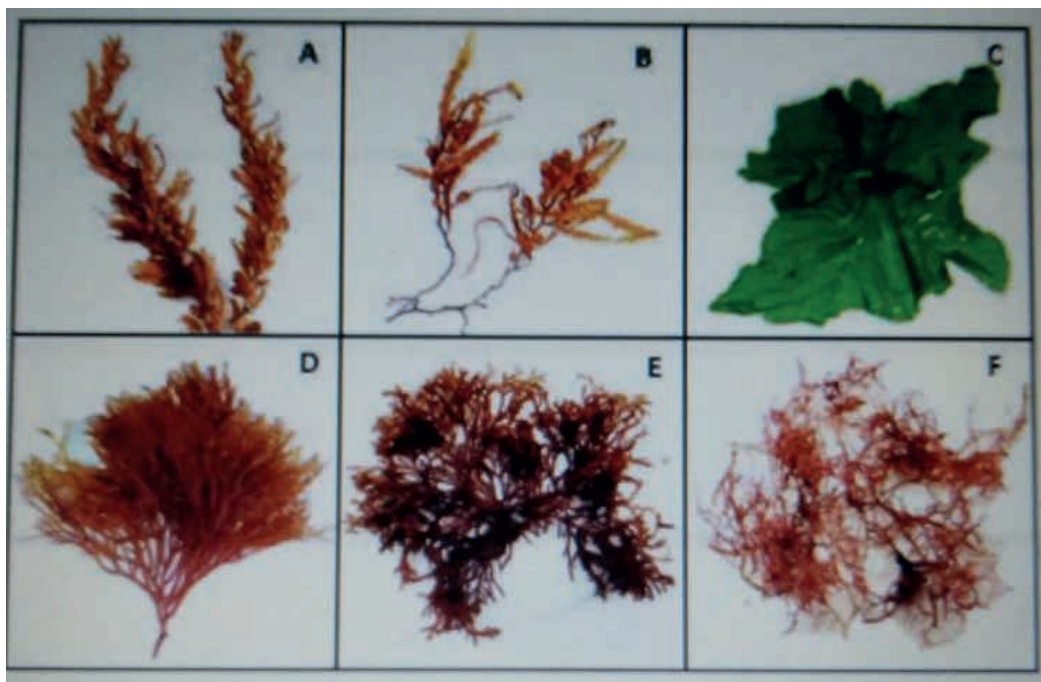



Ilustración 6 Macroalgas de consumo humano: A-B: *Sargassum* spp., C: *Ulva* so., D: *Gracilaria* sp., E: *Bryothamniom* sp., F: *Hypnea* sp. (Espinoza, 2021).

Es importante recalcar los beneficios que las algas nos brindan, aparte de servicios ambientales que ellas facilitan a la biosfera, como ejemplo la obtención de oxígeno, aumentar

el nivel de la fertilidad de suelos y océanos, disminuir el impacto del calentamiento global mediante la captura de carbono y la formación de nubes, y formar la base de las cadenas tróficas de ambientes acuáticos; las algas han sido desde la antigüedad aprovechadas por el hombre como fuente de alimento, forraje, fertilizantes y remedios para combatir enfermedades. En la actualidad se les considera un recurso renovable (Salcedo, 2019).

Adicionalmente, podemos mencionar que las algas tienen un potente nivel nutritivo al ser ingeridas, y han demostrado su relevancia en diferentes áreas de la medicina y sus posibles propiedades a la farmacología, caracterizando su destacada acción antioxidante (Beatriz Alves de Aguiara, 2022).

Actualmente se han caracterizado como fuentes de compuestos bioactivos, por contener metabolitos secundarios, entre ellos compuestos antioxidantes, de los cuales se puede nombrar a los polisacáridos, carotenoides y diferentes compuestos fenólicos. En la actividad antioxidante de estos compuestos, los más reconocidos son los ácidos fenólicos, flavonoides y los florotaninos (Vidal Novoa, 2021).

Como organismos fotoautótrofos, las algas poseen la capacidad de producir sus propias sustancias defensivas contra la oxidación sin dañar su estructura. Esto las convierte en una valiosa fuente de antioxidantes poderosos que pueden proteger nuestro organismo de los efectos dañinos de las especies de oxígeno generadas durante el metabolismo corporal normal. Entre estos antioxidantes se destacan los carotenoides y la vitamina E, ambos liposolubles y abundantes en las algas. Asimismo, las vitaminas, las ficobiliproteínas y los polifenoles son otros antioxidantes hidrosolubles presentes en estas especies (Singh *et al*, 2016).

Algunas de las sustancias antioxidantes con mayor presencia en las algas se encuentran agrupadas en la Ilustración 6 (Henríquez, 2018 y Michalak, 2015).

ANTIOXIDANTES	
	Proteínas
	Micosporina Aminoácidos
	Glutatión
	Polifenoles
	PUFAs
	Carotenoides
	Tocoferol
	Ascorbato

Ilustración 6 Propiedades antioxidantes en extractos de algas.

El término de antioxidantes hace referencia principalmente a pigmentos antioxidantes como clorofilas, carotenoides y compuestos fenólicos (Henriquez, 2018). Las propiedades antioxidantes de las algas pueden verse influenciadas por la presencia de moléculas como

carotenoides, los aminoácidos de tipo micosporina, los terpenoides y los polisacáridos sulfatados, aunque la mayoría de los investigadores creen que los compuestos polifenólicos como los ácidos fenólicos y cinámicos, florotaninos y bromofenoles, están entre los principales responsables de esta propiedad (Díaz, 2015).

Anteriormente hemos mencionado que los polifenoles son el conjunto de compuestos fenólicos más extenso de sustancias no energéticas en alimentos de origen vegetal, estos también están presentes en algas. Son un grupo de moléculas heterogéneas que tienen en su estructura conjuntos de fenoles, teniendo una fuerte actividad antioxidante para regular la actividad de algunas enzimas (Rojas, 2018).

También debemos mencionar al ácido ascórbico, más conocido como vitamina C, el cual ha sido reportado como una de las vitaminas producidas por diversas microalgas (Coronado-Reyes & González-Hernández, 2023).

Como metabolito, el ácido ascórbico es uno de los agentes antioxidantes y reductor poderoso, que puede reducir la acción perjudicial de los radicales libres, destacando sus principales funciones: neutralizar el oxígeno singlete (O_2), atrapar radicales hidroxilos, aniones superóxidos y regenerar la forma oxidada de la vitamina E. Además, ayuda a mejorar la absorción del hierro no-hemínico en alimentos de origen vegetal. También es importante y necesario para la formación y mantenimiento adecuado del material intercelular, sobre todo del colágeno. Esta vitamina no se sintetiza en el organismo, por lo que debe ser aportada por alimentos que contenga este compuesto (Rojas, 2018).

Las algas marinas tienen una gran fuente de compuestos antioxidantes, con distintas aplicaciones tanto en preservación de alimentos como en la prevención y tratamiento de diversas enfermedades. La extensa multiplicidad de estructuras químicas presentes, y la complejidad de los extractos, hace necesario el fraccionamiento de estos para lograr identificar qué tipo de compuestos son los que intervienen en la actividad antioxidante. Con estas estrategias se ha conseguido reconocer y separar varios metabolitos, que por sus estructuras químicas son capaces de donar electrones o protones, inhibir reacciones de oxidación, entre otras. Los estudios que se han realizado sobre la constitución de los extractos algales están orientados especialmente para la obtención de antioxidantes naturales como una alternativa a los antioxidantes sintético (García, 2020).

Para estudiar el potencial antioxidante de las algas de una manera más eficiente, debemos tener en cuenta su clasificación general. Las macroalgas se pueden dividir según su color fotosintético, las que presentan clorofila son las algas verdes; las que producen ficoeritrina, algas rojas; las de pigmento carotenoide que se lo llama fucoxantina presente en algas pardas. (Beatriz Alves de Aguiara, 2022).

- Clorofíceas: contienen clorofila, caracterizadas por ser verdes.
- Feofíceas: algas pardas o marrones por la presencia de fucoxantina.
- Rodofíceas: pigmento ficoeritrina, tonalidad roja.

- Cianofíceas: se caracterizan por ser algas azuladas o debido a la presencia del pigmento ficocianina.

Antioxidantes presentes en algas pardas

Las algas pardas (*Phaeophyceae*) han sido usadas desde la antigüedad por parte de tribus que la utilizaban como laxante de extractos ferméntenos para contrarrestar venenos de algunos arbustos. Se ha encontrado poder antioxidante en forma de vitamina E o tocoferol, a parte que es antioxidante, es antinflamatorio. También se ha demostrado niveles de polisacáridos con actividad anticoagulante.

Este tipo de algas se han destacado por tener extractos con capacidad antioxidante como fucoidanos, florotaninos, fucoxantina y laminaria. Las moléculas de fucanos y fucoidanos (formados a partir de α-L-fucopiranosa), otros polisacáridos que se hallan en las algas pardas, como la laminarina que pertenece a la familia de los glucanos identificados dentro de las vacuolas de las células, el alginato que es conocido como "carbohidrato coloidal hidrofílico" y otros metabolitos secundarios, como los carotenoides y los polifenoles, también se han reportado en la literatura con propiedades antioxidantes. La fucoxantina es muy importante en la estructura y composición de las algas pardas, ya que este es el pigmento orgánico que les da su color característico y favoreciendo al consumidor (Beatriz Alves de Aguiara, 2022).

Los polisacáridos que se encuentran en las algas pardas se hallan principalmente en forma de fucano y pocos en forma de alginato y laminarina. El fucoidan, polisacárido dominante, es el compuesto principalmente formado por grupos L-fucosa y sulfato, ha mostrado actividad antioxidante *in vitro* e *in vivo*, incluyendo una mejora significativa en las enfermedades mediadas por radicales libres (Zhang, 2020).

Se puede realizar ensayos de captación de radicales libres DPPH, el cual se utiliza para valorar la actividad antioxidante *in vitro* de las muestras. Los polisacáridos proveen hidrógeno o electrones a los radicales libres DPPH para formar moléculas estables (DPPH-H). El grupo atractor de electrones de los polisacáridos y las estructuras específicas activan los átomos de hidrógeno en los residuos de azúcar Según estudios, se ha demostrado que los polisacáridos sulfatados procedentes de algas pardas poseen una fuerte acción de erradicación de radicales libres de DPPH y capacidad de reducción (Zhang, 2020).

De las paredes de las algas pardas se realizan extracciones de ácido algínico que se recupera en forma de su sal de calcio o alginato. El alginato es un polímero compuesto de monómeros de ácido D- manurónico y L-gulurónico que se obtiene de algas pardas como *Macrocystis, Laminaria* y *Ascophyllum* y se utiliza en la industria farmacéutica y alimenticia como estabilizante de emulsiones y suspensiones (Salcedo, 2019).

El fucoidan que se encuentra en las macroalgas pardas, es un polisacárido sulfurado de la pared celular compuesto por una mezcla de monosacáridos como la glucosa, xilosa,

fucosa y galactosa, tiene acciones antiinflamatorias correlacionada con su actividad antioxidante y anticancerígena, debido a que induce la apoptosis celular originando la actividad de caspasas, o suprime la angiogénesis previniendo la formación de capilares sanguíneos (Salcedo, 2019), también puede aliviar el daño corporal causado por el estrés oxidativo mediante la regulación del sistema de defensas de antioxidantes del cuerpo (Zhang, 2020).

Algunos científicos han determinado el potencial antioxidante de diferentes porciones de un extracto metanólico del alga parda *Ecklonia cava* (antimicrobianas y anticancerígenas eficientes), con la utilización de varios modelos *in vitro*, estableciendo el poder reductor y la capacidad de inhibir la peroxidación lipídica y de quelar iones Fe^{2+}. Finiquitaron que las fracciones más hidrofílicas mostraban mayor actividad antioxidante y guardaban una relación directa con el contenido de polifenoles, es decir, que en la composición del alga están presentes diferentes tipos de estos, lo que pudiera explicar las diferencias en la actividad antioxidante por fracciones. En la utilización de métodos y técnicas que evalúan la actividad antioxidante como ABTS y DPPH, permitió identificar una mejor actividad en las algas pardas. Las propiedades antioxidantes de esta alga pueden aliviar importantes problemas de salud, como la lesión por estrés oxidativo inducida por alcohol de las células hepáticas HepG2, por lo cual puede tener una aplicación potencial perspectiva en el desarrollo futuro de antioxidantes (Liyuan *et al*, 2021).

Antioxidantes presentes en algas verdes

En el caso de las algas verdes, éstas producen clorofila A y B (Beatriz Alves de Aguiara, 2022) por lo cual requieren estar a niveles cercanos a la luz con el fin producir fotosíntesis para sobrevivir (García, 2020). Los principales heteropolisacáridos sulfatados de las algas verdes se llaman Ulvas (Ruas-Madiedo, 2015).

Su diversidad varía según su morfología y organización general, tienen gran flexibilidad en su desarrollo y metabolismo, llevándolas a colonizar numerosos hábitats. Acumulan almidón dentro del cloroplasto. Su pared celular está compuesta principalmente por celulosa, y en algunos casos presenta además otros polímeros o está calcificada. Viven en ambientes marinos costeros formando parte del nanoplancton, aunque también es posible encontrarlas en aguas dulces, lagos y ríos. Las macroalgas verdes están compuestas de muchos polisacáridos, entre ellos destaca el ulvan. Ulvan está principalmente formado de series de reproducciones de disacáridos compuestos de ramnosa sulfatada, ácido glucurónico, y ácido idurónico (Consuegra, 2014).

En las algas verdes se han registrado compuestos como hidratos de carbono, polifenoles, taninos, compuestos fenólicos, esteroides, triterpenos y cardenólidos (Molina, 2019). Los polisacáridos de algas verdes, se componen especialmente de α-l-ramnosa, xilosa, ácido glucurónico, idurónico y sulfato. Estos no solo tienen potencial como antioxidante y material antioxidante para la industria alimentaria, sino que también tienen

potencial como agente hepatoprotector para la industria farmacéutica (Zhang, 2020).

Las algas verdes del género *Ulva* podrían ser uno de los mayores en contener componentes bioactivos adecuados para diseñar alimentos funcionales, aunque en la actualidad se ha centrado en sus aplicaciones médicas debido a los polisacáridos. Se ha desarrollo con este tipo de alga nuevos productos que aportan proteínas de alta calidad, minerales, fibra, ácidos grasos esenciales, carotenoides, entre otros (García, 2020).

No existen florotaninos en las algas verdes, los cuales son compuestos fenólicos altamente polares, pero se han reportado otros fenoles, principalmente el ácido gálico como responsable el de la actividad antioxidante, además de la presencia de bromofenoles, los cuales presentan una polaridad menor acorde a los resultados de las investigaciones de los científicos. Estas algas tienen menor contenido fenólico que las pardas, sim embargo contienen mayor proporción de proteínas (Consuegra, 2014).

Antioxidantes presentes en algas rojas

En relación con las algas rojas, estas están constituidas por los géneros Porphyra, Palmaria, Gracilaria, Gelidium y Eucheuma. Como grupo, representan una importante fuente de proteínas que contienen todos los aminoácidos esenciales, que podrían ser beneficiosas en la prevención o tratamiento de enfermedades neurodegenerativas causadas por el estrés oxidativo (Alzheimer y Párkinson) debido a sus efectos antioxidantes (Gutiérrez, 2017).

Las algas pertenecientes a este grupo pueden medir 20 metros de longitud y hasta 2 metros de ancho, se cree que este tipo de algas son las de mayor tamaño (Turmo, 2016). Otro ejemplo son las algas rojas coralinas (rodofitas) que habitan en diferentes costas, coloreando estas regiones con una hermosa tonalidad roja o rosada, y son tan duras y afiladas que, de ser pisadas, causarían dolor al pie descalzo. Entre sus diminutas ramas, muchos organismos se desarrollan y encuentran refugio. La fotosíntesis de las algas coralinas conduce a la formación de estructuras de carbonatos con una arquitectura fascinante (León *et al*, 2019).

Bryothamnion triquetrum (S. G. Gmelin) también es un alga marina roja que crece en áreas poco profundas y por tanto expuesta a notables niveles de radiación solar. Esto pudiera conducir a la formación de radicales libres. Entonces la ausencia de daños oxidativos en sus componentes estructurales y fisiológicos evidencian un eficiente sistema de defensas antioxidantes (Mannino y Micheli, 2020).

Las propiedades antioxidantes de *B. triquetrum* se pueden explicar al menos parcialmente por su contenido en los ácidos fenólicos t-cinámico, p-coumárico y ferúlico, así como de otros metabolitos antioxidantes, lo cual la ubica como una promisoria fuente de antioxidantes naturales con aplicaciones como fitofármaco y/o nutracéutico (Vidal *et al*, 2021).

Con respectos a los polisacáridos de las algas rojas, producen principalmente galactanos-sulfatados como agar o carragenanos (Ruas-Madiedo, 2015). Un ejemplo de

ello es el alga roja *Schizymenia pacifica,* de la cual se aislaron un carragenano lambda, que resultó ser un poderoso inhibidor de la transcriptasa reversa del virus de inmunodeficiencia humana (HIV) y de la adsorción viral; también se han aislado galactanos activos contra HIV, herpes simplex (HSV) y otros virus envueltos a partir de las algas rojas.

Otra alga roja es *Rhodymenia howeana* que se reconoce como un alimento rico en nutrientes por su elevado valor proteico y bajo contenido de calorías, además de compuestos antioxidantes como polifenoles y niveles altos de hierro y zinc, por lo que podría ser usado como suplemento de dietas para humanos y animales (Rojas, 2018).

Según varios estudios, los polisacáridos de las algas rojas tienen menor actividad de captación de radicales hidroxilos. Estos pueden aliviar el daño de los órganos del tracto digestivo y el hígado a través de la mediación del estrés oxidativo (Zhang, 2020).

La producción de agar también es un punto de atención para las algas rojas. El alga roja *Gelidium sesquipedale* es el principal recurso en la industria española para la producción de agar de alta calidad. Como consecuencia del proceso industrial para la extracción del agar, se generan grandes cantidades de un residuo sólido que contiene importantes cantidades de compuestos de interés como proteínas (21%) y carbohidratos (37%). Es posible aprovechar el residuo sólido a partir de un concepto de biorrefinería, transformándolo en componentes de interés que puedan ser reincorporados al proceso industrial. Para ello, se realiza una valorización integral del subproducto mediante tecnologías novedosas y respetuosas con el medio ambiente, que permiten la extracción de la fracción proteica, carbono orgánico total, polifenoles totales y actividad antioxidante, ésta última tiene una correlación positiva con la concentración de polifenoles totales (Andrés *et al*, 2021).

Antioxidantes presentes en algas azul verdosa

Las algas azul verdosas son microalgas que producen antioxidantes como respuesta a la protección de daño producido por los distintos tipos de estrés, por ejemplo, los rayos UV y la temperatura. Factores físicos como la luz conllevan a aumentar carotenoides en las células de estas algas (Henriquez, 2018).

Las sustancias fotoprotectoras presentes en las algas marinas exhiben una amplia gama de actividades biológicas, tales como la absorción de rayos ultravioleta, antioxidantes, inhibidores de la matriz metaloproteinasa, propiedades antienvejecimiento y actividades inmunomoduladoras. Estas características hacen que estas sustancias bioactivas derivadas de algas marinas tengan un gran potencial para su uso en productos para el cuidado de la piel, cosméticos y aplicaciones farmacéuticas (Mondal *et al*, 2020).

Entre las algas azul verdosas más utilizadas están las del género *Spirulina,* que contienen varios nutrientes, implican alrededor del 65% de proteína, vitaminas E, complejo B, ficocianina, clorofila, β-caroteno, la superóxido dismutasa, y numerosos minerales. También presentan altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados y ácido linolénico.

Spirulina se considera la primera procariota encontrada que contienen ferredoxina estable y fácilmente extraíble. El pigmento más abundante es la Ficocianina unido a proteínas en cianobacterias y conforman más del 20% de su peso seco. En vista de su contenido de nutrientes, se piensa que es adecuado como un alimento funcional (Giannuzzi, 2017).

La clasificación de *Spirulina* como alga verde – azulada se debe a su composición química, la tonalidad verde es por la clorofila y la tonalidad azulada es por la ficocianina, esta especie cuenta con diversas aplicaciones, de la espirulina como suplemento alimenticio, en la salud y la industria (Galarza *et al*, 2022).

Este grupo de algas también se les conoce como cianobacterias marinas, y son una valiosa fuente de compuestos bioactivos con diversas aplicaciones en la salud humana, biocombustibles, cosméticos y biorremediación (Perera *et al*, 2023).

Las cianobacterias se encuentran entre los organismos vivos más antiguos del planeta y se pueden hallar en todos los ecosistemas de la Tierra, desde océanos, ríos y lagos de agua dulce hasta fuentes termales y desiertos. Aparte de su papel ecológico en los ciclos globales del carbono y el nitrógeno, las cianobacterias se están convirtiendo en un chasis cada vez más atractivo en la producción biotecnológica de compuestos de alto valor añadido, pues los requerimientos para su crecimiento, luz y CO_2, son mínimos, gratuitos y abundantes. Si bien diversas cianobacterias, sobre todo *Synechocystis* spp. y *Synechococcus* spp., han sido ya caracterizadas para su aplicación industrial, muchas de ellas crecen en condiciones muy concretas, principalmente en condiciones controladas de laboratorio. Por este motivo, continuamente se buscan nuevas cianobacterias que puedan utilizarse como chasis o bien aporten genes de interés en biotecnología. Por lo tanto, es importante estudiar la diversidad de cianobacterias para poder desarrollar su potencial para beneficio humano (Baldanta Callejo, 2022).

Estos microorganismos han sido ampliamente estudiados debido a sus propiedades fotoprotectoras naturales, que se deben a sus sustancias bioactivas únicas adquiridas como adaptación al entorno marino extremo y una serie de parámetros físicos. Entre las sustancias fotoprotectoras se encuentran aminoácidos similares a la micosporina, polisacáridos sulfatados, carotenoides y polifenoles (Pangestuti, Siahaan y Kim, 2018).

Antioxidantes presentes en fitoplancton

El fitoplancton está compuesto por distintas especies que varían en tamaño (hasta 7 órdenes de magnitud) y en niveles de organización (i.e., unicelular, cenobio, colonial y filamentoso) (Bonilla and Pick 2017).

La biomasa del fitoplancton es una variable que se usa en estudios de ecología y en monitoreos de floraciones de cianobacterias potencialmente tóxicas (López Magaña, 2022), ya que las cianobacterias planctónicas pueden crecer y acumularse formando floraciones como consecuencia de temperaturas elevadas, enriquecimiento de nitrógeno y fósforo o condiciones hidráulicas particulares, como el tiempo de residencia y niveles hídricos bajos

(Bonilla and Pick 2017; Huisman *et al*, 2018).

Estos organismos producen toxinas peligrosas para el ser humano, lo cual limita o impide los distintos usos del recurso hídrico y ocasiona cambios en las tramas tróficas y la biodiversidad del ecosistema acuático (Carmichael and Boyer 2016; Svirčev *et al*, 2019).

El caroteno y otros carotenoides, como la astaxantina y luteína, forman parte integral del aparato fotosintético de las microalgas y funcionan como pigmentos antioxidantes contra los productos activos del oxígeno que se forman a partir de la fotooxidación. Existen varios informes sobre la evaluación de la actividad antioxidante de algunas especies pertenecientes a los géneros Botryococcus, Chlorella, Dunaliella, Nostoc, Phaeodactylum, Polysiphonia, Scytosiphon, y Spirulina (Shaish, Avron, Pick, & Ben-Amotz, 1993).

En general, los carotenoides tienen dos funciones importantes en los organismos fotosintéticos, actuando como pigmentos accesorios captadores de luz y protegiendo el aparato fotosintético del estrés mediado por la luz (Skulberg, 2006).

En países asiáticos las algas han sido consumidas desde épocas milenarias, éstas se consumen en diversas preparaciones. Mientras que en países occidentales su utilización es menor. La reciente popularidad de sushi y comida asiática en países de Latinoamérica, como por ejemplo en Chile, ha estimulado el consumo de algas, además se incorporan en diversas preparaciones tradicionales, pero aun así su ingesta sigue siendo muy baja (Quitral *et al*, 2019).

Actualmente, el uso de las algas se enfoca en diversas áreas de aplicación; las algas son consideradas como el tipo de biomasa con mayor probabilidad de proporcionar cantidades suficientes de combustibles sin afectar el suministro de alimentos. Se han desarrollado varias tecnologías con el objetivo de obtener biocombustible a partir de algas (Piloni, 2019).

Sin embargo, esta revisión deja en evidencia que las algas son un recurso valioso para la obtención de sustancias muy útiles en beneficio de la vida y del ambiente, especialmente en el campo de aplicación de los compuestos antioxidantes.

4 | CONCLUSIONES

Los resultados de esta revisión confirman y mejoran la proyección de plantas medicinales antioxidantes, tanto de origen terrestre como acuícola, como fuente importante de metabolitos (taninos, polifenoles, flavonoides, fitoestrógenos, polisacáridos, vitaminas), cuya actividad podría refinarse en sistemas biotecnológicos, para comprender su comportamiento en escenarios funcionales más reales y de mayor éxito.

Así mismo, se generó un perfil basado en las experimentaciones de diversos autores, para producir, transformar y obtener sustancias con aplicaciones antioxidantes que permitan combatir los efectos de los radicales libres y del stress oxidativo en la salud, tanto humana como animal.

Además, se destacan otras aplicaciones no asociadas al área médico-farmacológica, pero con impacto industrial en la elaboración de pinturas, materiales anticorrosivos y de recubrimientos, en los que se resaltan los inhibidores verdes de corrosión de metales, así como el uso de plantas acuáticas y terrestres para la producción de sustancias comerciales y materias primas de diversas industrias.

REFERENCIAS

Accame, M. E. C. (2009). Actividad terapéutica de la corteza de canela. Panorama actual del medicamento, 33 (325), 733.

Agraje, Z., Barahona, I., Quíroz, J., Pino, H, Hernández, C., Saavedra, C. (2019). Análisis comparativo de inhibidores verdes *vs* inhibidores tradicionales en la corrosión de metales. *RIC* 5 (2): 83 – 89.

Alemany Bay, C. (2011) La región de «CANELOS» y el referente de la canela 1en el continente Americano2. *HISTORIA/CULTURA*, 31.

Alvarado Chávez, B. (2017). Actividad antioxidante y citotóxica de 35 plantas medicinales de la Cordillera Negra.

Alves de Aguiar, B., de Oliveira Silva, J. K., dos Santos Bezerra, J. L., de Queiroz Rodríguez, A., Oliveira Araújo, L., & Paulini, F. (2022). Composición, estructura, aislamiento y actividad antioxidante de metabolitos secundarios de algas pardas. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 53 (3): 268 – 287.

Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D. G. & Lightfoot, D. A. (2017). Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. Plants, 6, 1-23. DOI: 10.3390/ plants6040042.

Andrés, E. T., Riaño, P. A., Díez, T. S., & Calvo, S. B. (2021). Valorización del residuo del alga roja tras la extracción industrial de agar mediante tratamiento con agua subcrítica y extracción enzimática asistida. In *VII Jornadas de Doctorandos de la Universidad de Burgos [Recurso electrónico]* (pp. 437-450). Servicio de Publicaciones e Imagen Institucional.

Antonio-Alegría, L., de la Luz Sánchez-Mundo, M., Sánchez-Zacarías, M. A., & Hernández-Nava, R. G. (2021). Perfil proteico, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de hoja de moringa (Moringa oleífera). *RINDERESU*, *5*(2).

Aprael S., Yaro Anees A., Khadom Rafal K. Wael. (2013). Jugo de albaricoque como inhibidor de la corrosión verde del acero suave en ácido fosfórico. *Revista Alexandria Engineering* 52 (1): 129-135.

Arcos-Torres, J. F., Erazo-Sandoval, N. S., & Quishpe-Quishpi, F. E. (2022). Caracterización de Suelos Asociados a la Rizosfera de Mortiño (Vaccinium Floribundum Kunth) en los Páramos de Ganquis y Cubillín de la Provincia de Chimborazo. *Domino de las Ciencias*, *8*(1), 482-502.

Avello Lorca, M., López Canales, C., Gatica Valenzuela, C., Bustos Concha, E., Brieva Chait, A., Pastene Navarrete, E., & Bittner Berner, M. (2012). Efectos antimicrobianos de extractos de plantas chilenas de las familias Lauraceae y Atherospermataceae. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, *17*(1), 73-83.

Baldanta Callejo, S. (2022). Desarrollo de herramientas biotecnológicas en cianobacterias.

Balmont, C. C. (2014). Cinamaldehído: no sólo un dulce aroma. *Revista de Ciencias de la Universidad Pablo de Olavide*, 14, 1-4.

Benítez-Estrada, A., Villanueva-Sánchez, J., González-Rosendo, G., Alcántar-Rodríguez, V. E., Puga-Díaz, R., & Quintero-Gutiérrez, A. G. (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, *23*.

Bonilla, S., and F. R. Pick. 2017. Freshwater bloom-forming cyanobacteria and anthropogenic change. e-lecture. *Limnology and Oceanography* 7:1-62.

Carmichael, W. W., and G. L. Boyer. 2016. Health impacts from cyanobacteria harmful algae blooms: Implications for the North American Great Lakes. *Harmful Algae* 54:194-212.

Castaño Corredor, M. P. (2008). Maca *(Lepidium peruvianum Chacón)*: composición química y propiedades farmacológicas. *Rev. fitoter*, 21-28.

Castillo, F. M. O., Pita, M. D. L. Á. B., Veig, D., Gonzalez, N. P. V., & Herrera, A. M. (2019). Efectos antioxidantes de Moringa oleifera LAM en vitroplantas de banano clon Williams enraizadas en sistemas de inmersión temporal RITA. *Revista Científica Agroecosistemas*, *7*(3), 57-63.

Castro Castro, L. J., & Sosoranga Valencia, S. L. (2020). Evaluación fitoquimica y actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos en hojas y flores de *Chuquiraga jussieui* jf gmel (asteraceae) (Doctoral dissertation, Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas).

Castro-Restrepo, D., Díaz-García, J. J., Serna-Betancur, R., Martínez-Tobón, M. D., Urrea, P. A., Muñoz-Durango, K., & Osorio-Durango, E. J. (2013). Cultivo y producción de plantas aromáticas y medicinales.

Chavan, P., Singh, A. K. & Kaur, G. (2018). Recent progress in the utilization of industrial waste and by-products of citrus fruits: A review. *Journal of Food Process Engineering*, 41, e12895. https://doi.org/10.1111/jfpe.12895.

Consuegra Valenzuela, V. A. (2014). Extracción de antioxidantes polifenólicos desde macroalgas *macrosystis pyrifera* y *ulva rígida*.

Coronado, M., Vega y León, S., Gutiérrez, R., Vázquez, M., & Radilla, C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista chilena de nutrición*, *42*(2), 206-212.

Coronado-Reyes, J. A., & González-Hernández, J. C. (2023). Vitamins from microalgae. En Handbook of Food and Feed from Microalgae: Production, Application, Regulation, and Sustainability (pp. 111-115).

Cortes, M. (2016). Estudio de factibilidad para la elaboración de fruta confitada a partir de la cáscara de sandía (tesis de pregrado). Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador.

Culqui, H. H., Zumaeta, C. R. B., Quintana, S. G. C., & Silva, E. A. A. (2021). Evaluación de la capacidad antioxidante y actividad antibacteriana del extracto acuoso y etanólico de *Cymbopogon citratus*. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, *3*(2), 9-15.

De Lima Silva, F., Sugauara, E. Y. Y., Magalhães, H. M., Pascotto, C. R., Colauto, N. B., Linde, G. A., ... & GAZIM, Z. (2014). Atividade antimicrobiana do óleo essencial de Cymbopogon citratus. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, *17*(3).

Díaz Gutierrez, D., Méndez Ortega, W., Oliveira e Silva, A. M. D., Zaldívar Muñoz, C., Mancini-Filho, J., & Vidal Novoa, A. (2015). Comparación de las propiedades antioxidantes y contenido de polifenoles de extractos acuosos de las algas marinas *Bryothamnion triquetrum* y *Halimeda opuntia*. *Ars Pharmaceutica (Internet)*, *56*(2), 89-99.

Domínguez, E., & Ordoñez, E. (2018). Evaluación de la actividad antioxidante, vitamina c de zumos cítricos de lima dulce (*Citrus limetta*), limón tahití (*Citrus latifolia*), limón rugoso (*Citrus jambhiri lush*) y mandarina cleopatra (*Citrus reshni*) almacenados en refrigeración. *RevIA*, *3* (1).

Echavarría, B., Franco, A., & Martinez, A. (2009). Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de compuestos fenólicos en extractos de macroalgas del Caribe Colombiano. *Vitae*, *16*(1), 126-131.

El-Hadary, A. E., Elsanhoty, R. M. & Ramadan, M. F. (2019). *In vivo* protective effect of *Rosmarinus officinalis* oil against carbon tetrachloride (CCl_4)-induced hepatotoxicity in rats. *PharmaNutrition, 9*, 1-7. https://doi.org/10.1016/j. phanu.2019.100151.

Estrada-Hernández, O., Hernández-Rodríguez, O. A., & Guerrero-Prieto, V. M. (2016). Múltiples formas de aprovechar los beneficios de moringa (*Moringa oleifera Lam.*). *Tecnociencia Chihuahua*, 10(2).

Espinosa-Antón, A. A., Hernández-Herrera, R. M., & González González, M. (2021). Potencial de las macroalgas marinas como bioestimulantes en la producción agrícola de Cuba. Centro Agrícola, 48(3), 81-92.

Fernández-Cusimamani, E., Espinel-Jara, V., Gordillo-Alarcón, S., Castillo-Andrade, R., Žiarovská, J., & Zepeda-Del Valle, J. M. (2019). Estudio etnobotánico de plantas medicinales utilizadas en tres cantones de la provincia Imbabura, Ecuador. *Agrociencia*, *53* (5), 797-810.

Fonseca-García, L., Calderón-Jaimes, L., & Rivera, M. (2014). Capacidad antioxidante y contenido de fenoles en café y subproductos del café producido y comercializado en norte de Santander (Colombia). *Vitae*, 21(3), 228-236.

Galarza, K. O., & Calero, W. M. (2022). Aplicaciones de la espirulina-planta marina: revisión panorámica. *Salud, Ciencia y Tecnología*, *2*, 174-174.

García, A. Á., & Carril, E. P. U. (2011). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (biología)*, *2* (3).

García, F. S. (2020). Caracterización de las propiedades del alga verde *Ulva rigida* recolectada en los esteros gaditanos. *ESTUDIO Y EVALUACIÓN DEL POTENCIAL ALIMENTARIO DEL ALGA VERDE Ulva* spp*. DE LOS ESTEROS GADITANOS*, 277.

García, P., Guerra, L., Quintero, J., Rodríguez, D., Sosa, Y. (2016). Extracción del aceite de la cáscara de la nuez de la India (*Anacardium Occidentale*) para el tratamiento superficial de metales. *Revista de Iniciación Científica* 2 (2).

Gómez, E. S. O., López, A., & Reátegui, D. (2020). Infusiones de plantas medicinales: Actividad antioxidante y fenoles totales. *Agroindustrial Science*, *10*(3), 259-266.

Gómez Perero, E. P., & Lazo Barriga, S. M. (2022). Análisis bibliográficos de los estudios realizados a los componentes de la *Calendula officinalis y Arnica montana* en el tratamiento dérmico (Doctoral dissertation, Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas).

Gómez Ruiz, L. R. (2017). Evaluación de la actividad antioxidante en los extractos obtenidos por CO_2 supercrítico de dos especies vegetales *Plantago major* (*plantaginaceae*) y *Arnica montana* l (*asteraceae*).

Giannuzzi, L., & Petnenshsky, T. (2017). Potencial riesgo a la salud de los suplementos dietarios que contienen algas azul-verdosas.

Gonçalves, F. G., Lelis, R. C. C., & Oliveira, J. T. S. (2008). Influência da composição da resina tanino-ureia-formaldeído nas propriedades físicas e mecânicas de chapas aglomeradas. *Revista Árvore*, 32(4), 715-722. doi: 10.1590/S0100-67622008000400013.

Gonçalves, F. G., Lelis, R. C. C., Oliveira, J. T. S., Garcia, R. A., & Brito, E. O. (2017). Chapas aglomeradas confeccionadas com ureiaformaldeído sob adição de tanino em pó. *Ciência Florestal, 27*(4), 1349-1363. doi: 10.5902/1980509830216.

Gonçalves, F. G., Chaves, I. L. S., Fassarella, M. V., Brito, A. S., Silva, É. S. G. D., López, Y. M., & Oliveira, R. E. G. D. (2021). Extracción de taninos de la corteza de Pinus spp tratada térmicamente-aplicación como adhesivo. *Madera y bosques*, *27* (1).

Gutiérrez Cuesta, R., González García, K. L., Hernández Rivera, Y., Acosta Suárez, Y., & Marrero Delange, D. (2017). Algas marinas, fuente potencial de macronutrientes.

Henríquez Ramírez, J. A. (2018). Actividad antioxidante de las microalgas *Chlamydomonas* sp. y *Pediastrum* sp. como respuesta a la radiación UV y altitud de origen.

Huisman, J., G. A. Codd, H. W. Paerl, B. W. Ibelings, J. M. H. Verspagen, and P. M. Visser. 2018. Cyanobacterial blooms. *Nature Reviews Microbiology* 16:471-483.

Ibáñez, E., & Herrero, M. (2017). *Las algas que comemos* (Vol. 81). Los libros de la Catarata.

Kim, J. H. & Kim, M. Y. (2016). The potential use of Citrus juice waste as sources of natural phenolic antioxidants. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(12), 202-205. DOI: 10.7324/JAPS.2016.601230.

Kim, Y. H., Ogata, T., & Nakano, Y. (2007). Kinetic analysis of palladium (II) adsorption process on condensed-tannin gel based on redox reaction models. *Water Research, 41* (4), 3043-3050. doi: 10.1016/j.watres.2007.02.016.

Jaisan, C., & Punbusayakul, N. (2016). Development of coffee pulp extract- incorporated chitosan film and its antimicrobial and antioxidant activities. *KKU Research Journal*, 21 (14 Suppl.), 140-149. doi: 10.14456/kkurj.2016.17.

Jiménez, C. I. E., Martínez, E. Y. C., & Fonseca, J. G. (2009). Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Rev Fac Med UNAM*, *52*(2), 73-5.

Katinas, L., Guerrero, E. L., & Hiriart, F. D. D. (2022). La Fitogeografía de Joaquín Frenguelli y de Ángel Lulio Cabrera y el predominio de una visión biogeográfica histórica. *Revista del Museo de La Plata*, *7*(2), 81-94.

Kolodziejczyk-Czepas, J., M. Bijak, J. Saluk, M. B. Ponczek, H. M. Zbikowska, P. Nowak, M. Tsirigotis-Maniecka, and I. Pawlaczyk. 2015. Radical scavenging and antioxidant effects of Matricaria chamomilla polyphenolic-polysaccharide conjugates. *Int. J. Biol. Macromol*. 72: 1152-58.

León Álvarez, D., López Gómez, N. A., Ponce Márquez, M. E., Núñez Resendiz, M. L., Candelaria Silva, C. F., Cruz Rodríguez, A., & Rodríguez Vargas, D. (2019). Géneros de algas marinas tropicales de México. Algas rojas.

Leyva, E., Navarro-Tovar, G., Loredo-Carrillo, S. E., & Santos, D. M. S. (2011). Biosíntesis y actividad biológica de fitoestrógenos y fitoesteroides. *Bol. Soc. Quím. Méx*, *5*(2), 3.

Liyuan, L., Shengtao, Y., Zhenbang, X., Pengzhi, H., Shengli, S., Chunxia, Z. and Zhong-Ji, Q. (2021). The Inhibition Effect of the Seaweed Polyphenol, 7-Phloro-Eckol from Ecklonia cava on Alcohol-Induced Oxidative Stress in HepG2/CYP2E1 Cells. Mar. Drugs, 19: 158. https://doi.org/10.3390/md19030158.

Lindorf, H. (2002). La nuez moscada y la canela en América. *Acta Bótanica Venezuelica*, *25*(1), 97-102.

López Magaña, J. L. (2022). Variabilidad espacio-temporal del fitoplancton en la región sur del Golfo de California.

Lorenzo, M.; Sichetti M. P.E. 2016. Phenolic compounds of green tea: Health benefits and technological application in food. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 6(8): 709-719.

OMS (Organización Mundial de la Salud). 2013. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Ginebra, Suiza. 75 p.

Maldonado, C., Paniagua-Zambrana, N., Bussmann, R. W., Zenteno-Ruiz, F. S., & Fuentes, A. F. (2020). La importancia de las plantas medicinales, su taxonomía y la búsqueda de la cura a la enfermedad que causa el coronavirus (COVID-19). *Ecología en Bolivia*, *55* (1), 1-5.

Mannino, A.M., y C. Micheli (2020). Ecological Function of Phenolic Compounds from Mediterranean Fucoid Algae and Seagrasses: An Overview on the Genus Cystoseira sensu lato and Posidonia oceanica (L.) Delile. *J. Mar. Sci. Eng. 8* (19): 1-19.

Más Toro, D., Martínez Aguilar, Y., Rodríguez Bertot, R., Pupo Torres, G., Rosabal Nava, O., & Olmo González, C. (2017). Análisis preliminar de los metabolitos secundarios de polvos mixtos de hojas de plantas medicinales. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, *22*(1), 0-0.

Mayor Oxilia, R. (2010). Estrés oxidativo y sistema de defensa antioxidante. *Revista del instituto de medicina tropical*, *5*(2), 23-29.

Melo Saca, M. J. (2019). Marcha fitoquímica, contenido de fenoles totales y propiedades antioxidante, anti-elastasa y anti-colagenasa de extractos etanólicos de macroalgas del litoral peruano.

Michalak, I. y Chojnacka, K. (2015). Algae as production systems of bioactive compounds. *Engineering in Life Sciences*, *15*(2): 160-176.

Mite, A. I. A., Loor, J. L. M., Casillas, D. O. C., & Larreta, F. S. G. (2022). Estudio Comparativo de la Composición Química, Fenoles Totales y Actividad Antioxidante de *Citrus síntesis*, *Citrus reticulata* y *Citrus máxima. RECIAMUC*, *6*(3), 535-545.

Mondal, A., Bose, S., Banerjee, S., Patra, J.K., Malik, J., Mandal, S.K., Kilpatrick, K.L., Das, G., Kerry, R.G., & Fimognari, C. (2020). Marine cyanobacteria and microalgae metabolites—A rich source of potential anticancer drugs. *Mar. Drugs, 18*: 476. https://doi.org/10.3390/md18100476.

Moreno, L. G. N., Agosto, J. G., & Hipólito, C. N. (2023). Composición fitoquímica y propiedades antioxidantes de la planta mala madre (*Kalanchoe pinnata*). *South Florida Journal of Development*, *4*(1), 201-214.

Mori, F. A., Mori, C. L. S. O., Mendes, L. M., Silva, J. R. M., & Melo, V. M. (2003). Influência do sulfito e hidróxido de sódio na quantificação em taninos da casca de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*). *Floresta e Ambiente*, 10 (1), 86-92.

Nieto, G., Ros, G. & Castillo, J. (2018). Antioxidant and Antimicrobial Properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): *A Review. Medicines*, 5, 1-13. DOI: 10.3390/medicines5030098.

Ojeda, C. M., Ramos, D. A., & Núñez, I. C. (2020). Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en un extracto blando de flores de *Calendula officinalis* Linn.*Orange Journal*, *2*(3), 20-31.

Ojito Ramos, K., Herrera Sánchez, Y., Vega Pérez, N., & Portal Villafaña, O. (2012). Actividad antioxidante *in vitro* y toxicidad de extractos hidroalcohólicos de hojas de *Citrus* spp. (Rutaceae). *Revista cubana de plantas medicinales*, *17*(4), 368-379.

Palomino, L. R., García, C. M., Rojano, B. A., & Diego, L. (2009). Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquia (Colombia). *Vitae*, *16*(3), 388-395.

Pangestuti, R., Siahaan, E. A., & Kim, S. K. (2018). Photoprotective Substances Derived from Marine Algae. Marine drugs, 16(11), 399. https://doi.org/10.3390/md16110399

Pascal, C., & Maritsa, L. (2015). Efecto antifúngico del aceite esencial del *origanum vulgare* (orégano) y *cymbopogon citratus* (hierba luisa), sobre cepas de *Candida albicans* en comparación con la nistatina estudio *in vitro* (Bachelor's thesis, Quito: UCE).

Paz-Díaz, H. J., Agudelo-Beltran, A. Y., Plata-Pastor, D. A., Pacheco-Valderrama, M., Salazar-Beleño, A. M., & Murillo-Méndez, C. J. (2021). Extracto de taninos del fruto piñón de oreja (*Enterolobium cyclocarpum*) como curtiente para piel de conejo común (*Oryctolagus cuniculus*). *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, *19* (1), 180-190.

Pérez-Hernández, L. M., Chávez-Quiroz, K., Medina-Juárez, L. Á., & Gámez Meza, N. (2013). Compuestos fenólicos, melanoidinas y actividad antioxidante de café verde y procesado de las especies *Coffea arabica* y *Coffea canephora*. *Biotecnia*, 15(1), 51-56. Recuperado de https://biotecnia. unison.mx/ index.php/biotecnia/article/view/136/128.

Piloni, R. V. (2019). Pirólisis rápida de algas: obtención de productos de alto valor agregado.

Quitral, V., Jofré, M. J., Rojas, N., Romero, N., & Valdés, I. (2019). Algas marinas como ingrediente funcional en productos cárnicos. *Revista chilena de nutrición*, *46*(2), 181-189.

Rahman, M. M., Akter, N., Karim, M. R., Ahmad, N., Mohammed, M. R., Siddiquey, I. A., Bahadur, N. M., & Hasnat, M. A. (2014). Optimization, kinetic and thermodynamic studies for removal of brilliant red (X-3B) using tannin gel. *Journal of Environmental Chemical Engineering, 2* (1), 76-83. doi: 10.1016/j. jece.2013.11.023.

Reyes Pillajo, I. Y. (2017). Evaluación de la cantidad antioxidante y antibacteriano de los frutos rojos sobre cepas de *Streptococcus Mutans*: estudio *in vitro* (Bachelor's thesis, Quito: UCE).

Rojano, B. A., & Gaviria, C. A. (2008). Determinación de la actividad antioxidante en un modelo de peroxidación lipídica de mantequilla inhibida por el isoespintanol. *Vitae*, *15*(2): 212-218.

Rojas Vega, N. C., Valdivieso Izquierdo, R., & Arnao Salas, I. (2018). Composición nutricional del alga roja *Rodhymenia howeana* de la bahía de Ancón, Perú. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, *84* (4), 488-498.

Romero, N. A., Cardoza, I. U., Rodríguez, A. D., Romero, A. A., & Romero, N. A. (2021). Estudio etnofarmacológico de especies de frutales del Macizo Nipe-Sagua-Baracoa. *Revista ECOVIDA*, *11*(3), 250-260.

Ruas-Madiedo, P., Rúperez, P., Redondo-Cuenca, A., Sanz, M. L., Clemente, A., Corzo, N. & Plou, F. J. (2015). Prebióticos; concepto, propiedades y efectos beneficiosos. *Nutrición hospitalaria*, *31*(1), 99-118.

Salas, J. B., Téllez, T. R., Pardo, F. M. V., Capdevila, M. D. L. Á. C., & Rodríguez, C. G. (2013). Composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de Salvia sclarea L. (LAMIACEAE) en Extremadura. *Folia Botanica Extremadurensis*, (7): 47-52.

Salcedo-Martínez, S. M., Rocha-Estrada, A., Alvarado-Vázquez, M. A., & Moreno-Limón, S. (2019). Algas de importancia biotecnológica. *Secretario General*, *15*(26): 30.

San-Miguel, A., & Martin-Gil, F. J. (2009). Importancia de las especies reactivas al oxigeno (radicales libres) y los antioxidantes en clínica. *Gaceta Médica de Bilbao*, *106*(3): 106-113.

Shaish, A., Avron, M., Pick, U., & Ben-Amotz, A. (1993). Are active oxygen species involved in induction of β-carotene in *Dunaliella bardawil?*. *Planta*, 190: 363-368.

Singh, J. S., Kumar, A., Rai, A. N., & Singh, D. P. (2016). Cyanobacteria: A precious bio-resource in agriculture, ecosystem, and environmental sustainability. Frontiers in Microbiology, 7. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00529

Skulberg, O. M. (2006). Bioactive chemicals in microalgae. In A. Richmond (Ed.), Handbook of microalgal culture, biotechnology, and applied phycology (pp. 485-512). Oxford: Blackwell.

Stashenko, E. E., Martínez, J. R., Durán, D. C., Córdoba, Y., & Caballero, D. (2014). Estudio comparativo de la composición química y la actividad antioxidante de los aceites esenciales de algunas plantas del género Lippia (Verbenaceae) cultivadas en Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, *38*, 89-105.

Svirčev, Z., D. Lalić, G. Bojadžija Savić, N. Tokodi, D. Drobac Backović, L. Chen, J. Meriluoto, and G. A. Codd. 2019. Global geographical and historical overview of cyanotoxin distribution and cyanobacterial poisonings. Archives of Toxicology. Springer Berlin Heidelberg.

Tobon, M. C., Ramírez, G. H., & Rosas, F. H. (2015). Influencia de la actividad de agua y la temperatura en el desarrollo de aislamientos nativos de *Trichoderma* spp procedentes de la rizsfera de caña de azúcar.

Torres, G. M., Sarmiento, O. I., Ramírez, R. I., & Guevara, O. (2018). Estimación del contenido de fenoles totales en aceite esencial de Caléndula (*Calendula officinalis* L) obtenido mediante OAHD. *Revista Ion*, *31*(1), 7-12.

Turmo Ibarz, A. (2016). Capacidad antioxidante y cuantificación de polifenoles extractables *in vitro* en algas de consumo alimentario.

Valencia-Avilés, E., Ignacio-Figueroa, I., Sosa-Martínez, E., Bartolomé-Camacho, M. C., Martínez-Flores, H. E., & García-Pérez, M. E. (2017). Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas*, (16), 15-29.

Vandebroek, I., E. Thomas, S. Sanca, P. Van Damme, L. Van, and N. De Kimpe. (2008). Comparison of health conditions treated with traditional and biomedical health care in a Quechua community in rural Bolivia. *J. Ethnobiol. Ethnomed*. 4:1.

Vázquez-Flores, A. A., López-Díaz, J. A., Wall-Medrano, A., & Laura, A. (2012). Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. *Tecnociencia Chihuahua*, *6*(2), 84-93.

Venkatesan, J., Kim, S. K., & Shim, M. S. (2016). Antimicrobial, antioxidant, and anticancer activities of biosynthesized silver nanoparticles using marine algae *Ecklonia cava*. *Nanomaterials*, *6*(12): 235.

Vidal Novoa, A. D. J., Mancini-Filho, J., Carrillo Farnés, O., & Zaldivar Muñoz, C. (2021). Propiedades hepatoprotectoras de las algas marinas: estrés oxidativo en modelos animales intoxicados con xenobióticos. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 55(3): 289-302.

Vidal Novoa, A. D. J., Mancini-Filho, J., de Oliveira e Silva, A. M., Silva de Andredade-Warth, E. R., Díaz Gutierrez, D., & Carla Montenegro, L. (2021). Caracterización química y actividad antioxidante in vitro del alga marina Bryothamnion triquetrum (SG Gmelin) Howe: análisis de resultados experimentales. *Cuban Journal of Biological Sciences/Revista Cubana de Ciencias Biológicas*, *9*(1).

Vieira, M. C., Lelis, R. C. C., & Rodrigues, N. D. (2014). Propriedades químicas de extratos tânicos da casca de *Pinus oocarpa* e avaliação de seu emprego como adesivo. *Cerne, 20* (1), 47-54. doi: 10.1590/S0104-77602014000100006.

Volz, T. J., & Clause, T. P. J. (2001). Tannins in *Puccinellia arctica*: possible deterrents to herbivory by Canada geese. *Journal of Chemical Ecology, 27* (4), 725-732. doi: 10.1023/A:1010349918664.

Wong-Paz, J. E., Aguilar-Zárate, P., Veana, F., & Muñiz-Márquez, D. B. (2020). Impacto de las tecnologías de extracción verdes para la obtención de compuestos bioactivos de los residuos de frutos cítricos. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, *23*(1), 1-11.

Yábar Villanueva, E., & Reyes De La Cruz, V. (2019). La Maca (*Lepidium meyenii walpers*) alimento funcional andino: bioactivos, bioquímica y actividad biológica. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, *21*(2), 139-152.

Yanaisy, P. Q., Yilan, F. B., Albys, F. D., Elizabeth, I. A., & Guillermo, A. K. (2021). Revisión en la actividad farmacológica antiinflamatoria de *Calendula officinalis* L. In *I Simposio de Investigaciones sobre Plantas Medicinales*.

Zhang, J., Ding, Y., Yang, L., Li, X., & Chen, X. (2020). Antioxidant activities of red algae in China: A systematic review. *Marine Drugs*, 18(2), 83. doi: 10.3390/md18020083.

Zhang, X. & World Health Organization. 2002. Traditional medicine strategy 2002-2005, Ginebra.

Zhou, X., & Du, G. (2019). Applications of tannin resin adhesives in the wood industry. doi: 10.5772/intechopen.86424.

THE IMPACT OF CLIMATE CHANGE ON THE ECOSYSTEM SERVICES OF RIVERS

Data de aceite: 02/10/2023

Christopher E. Orozco González
School of Natural Sciences and Technology, Department of Environmental Sciences, Ana G. Méndez University Gurabo Campus, P.O. Box 3030, Gurabo, PR 00778-3030, USA

ABSTRACT: In 2013, the United Nations' Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) outlined climate change as the modification of the climate resulting from human activities that affect the composition of the global atmosphere. This phenomenon is separate from the natural climate variations observed over similar periods. The objective of this paper was to discuss the impact of climate change on river ecosystem services. Scientific research from the last ten years was reviewed. The 2005 Millennium Ecosystem Assessment report was used as the basis for the study. It is concluded that the ecosystem services of provisioning, regulation, support, and cultural services have been impacted by climate change, which anthropogenic factors have accelerated. Pollution in rivers has diminished the provisioning services for humans and the aquatic ecosystem. On the other hand, the ecosystem services of river regulation and support have been destabilized by the increase in natural phenomena such as hurricanes and more frequent flooding. Finally, the impact of climate change on rivers, such as reducing their flows, has resulted in the decrease of spaces for recreation and cultural development in society.
KEYWORDS: Anthropocene; biosphere; ecology; hydrology; nature

1 I INTRODUCTION

Climate change is one of the greatest challenges facing planet Earth in the 21st century. With the advent of industrialization and the excessive increase in anthropogenic activities, climate change has accelerated. According to the latest report from the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC, 2021), scientists have been closely observing and studying the evolution and changes occurring in terrestrial and aquatic ecosystems and how climate change has impacted them **[1]**. Within aquatic ecosystems, rivers represent the main source of freshwater

in the world. Climate change represents a threat to the ecosystem services provided by these ecosystems, especially for rivers that have low flow and are vulnerable to periods of drought. Overall, the destabilization of hydrological cycles, rising sea levels, snow melting in polar regions, and the increase in extreme droughts in various parts of the planet have led to a decrease in the availability of river ecosystem services for the present and future generations. The provision of freshwater, aquatic biodiversity, and recreational spaces are some of the ecosystem services at risk due to climate change. This essay aims to explore the impact of climate change on river ecosystem services, based on the concept of river ecosystem services established by the Millennium Ecosystem Assessment Report in 2005 **[2]**.

2 I BACKGROUND

2.1 Climate Change

Climate includes a set of changing states in the atmosphere that interact with oceans and continents on long-time scales, spatial scales, and other variables **[3]**. However, the naturally occurring long-term changes have been accelerated by anthropogenic activities **[4]**. The Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change of the United Nations in 2013 defined climate change as “a change in climate that is attributed directly or indirectly to human activity, which alters the composition of the global atmosphere and adds to the natural variability of climate observed over comparable time periods” **[4]**. On 9 August 2021, the IPCC issued a press release highlighting that climate change is intensifying the hydrological cycle, leading to increased intensity of precipitation, floods, and more severe droughts in many regions **[1]**. Similarly, the statement indicates that in high-latitude regions, precipitation is likely to increase, while it is expected to decrease in much of the subtropical regions. Additionally, according to the IPCC, there is a prediction that extreme sea-level events, which previously had a frequency of once every one hundred years, could become an annual occurrence by the end of the current century. All these changes have a negative impact on rivers and the biodiversity that inhabits them. Changes in their physicochemical parameters and adverse events such as wildfires, droughts, and hurricanes reduce their ecosystem services.

2.2 Rivers and Ecosystem Services

Rivers are ecosystems with continuous or discontinuous water currents and variable flow that discharge into another river, a lake, a reservoir, or the sea **[5]**. The term ecosystem can be defined as the sum of individuals from different species that form a community, together with the sum of functions and interrelationships that occur among them **[3]**. Within ecosystems, there are terrestrial ecosystems, which include forests and deserts, and aquatic ecosystems, which include rivers, lakes, and oceans, among others. Each component of

ecosystems produces benefits for humans and the biosphere in general. These benefits were formally described through the Millennium Ecosystem Assessment (MEA) by the United Nations in 2005. The assessment defines ecosystem services as the benefits that the human population obtains, directly or indirectly, from the functions of ecosystems. Similarly, ecosystem services are classified into provisioning services, regulating and support services, and cultural services **[2,6]**. Climate change threatens the survival of aquatic ecosystems, their ecosystem services, and therefore, the societies dependent on them **[7]**.

2.3 Provisioning Ecosystem Services of Rivers

Provisioning ecosystem services refer to goods or products obtained directly from ecosystems **[2]**. River ecosystem services are vital for human well-being, providing a wide range of benefits that sustain our societies and economies. Rivers are the main source of freshwater that sustains society. The provision of this precious resource, as well as the food derived from it, such as fish and shrimp, is of vital importance, especially for communities with limited agricultural spaces. Additionally, in many regions with elevated levels of poverty, provisioning ecosystem services directly serves to supply communities and ensure their subsistence **[2, 8-9]**.

One of the primary provisioning ecosystem services of rivers is the provision of freshwater for domestic, agricultural, industrial, and recreational purposes. Rivers serve as natural reservoirs, storing and transporting water across landscapes, making it accessible to human populations. Surface water extracted from rivers serves as a reliable source for clean water supply systems, ensuring the availability of clean and potable water to communities **[10]**. Furthermore, rivers facilitate irrigation systems, supporting agricultural productivity and food security **[11]**. These services contribute significantly to human well-being and socioeconomic development. Similarly, rivers are crucial habitats for a diverse array of fish species, supporting valuable fisheries that provide sustenance, income, and employment opportunities for millions of people worldwide **[12]**. Rivers serve as spawning grounds and habitats for many fish species, ensuring their reproductive success and the maintenance of fish populations **[13]**. These freshwater fish resources contribute to the nutritional needs of local communities and function as an economic driver, particularly in rural areas where fishing is a primary livelihood activity.

In terms of power supply and the provisioning of materials and minerals, the flowing water in rivers possesses kinetic energy, which can be harnessed to generate electricity through hydropower systems. Hydropower represents a significant provisioning ecosystem service provided by rivers, offering a renewable and sustainable source of energy **[14]**. Dams and other large-scale hydropower plants harness the potential energy of water to produce electricity, thus enhancing energy security, reducing dependence on fossil fuels, and mitigating the emissions of greenhouse gases **[15]**. This service is particularly relevant in regions with abundant river resources and a need for affordable and clean energy.

Lastly, rivers function as carriers, transporting sediments, minerals, and nutrients from their catchment areas to downstream regions. This process results in the accumulation of valuable sediments and deposits along riverbanks, such as sand, gravel, and minerals. These raw materials serve as important resources for construction, infrastructure development, and manufacturing industries **[16]**. Riverine extraction of these materials supports economic activities, including building construction, road development, and the production of concrete and ceramics.

2.4 Impact of Climate Change on the Provisioning Ecosystem Services of Rivers

Global warming poses significant threats to rivers, impacting their hydrological patterns, water quality, and ecosystems. Rising temperatures have several adverse effects on rivers, including altered precipitation patterns, increased evaporation rates, and changes in snowmelt dynamics. These changes can lead to decreased water availability, reduced flow, and increased frequency of droughts in some regions **[17-18]**. Furthermore, the increase in global temperatures can amplify the occurrence and intensity of extreme weather phenomena, such as floods and storms. These events have the potential to inflict substantial harm to river ecosystems, including riverbank erosion and disruption of aquatic habitats **[19-20]**. Alterations in temperature and precipitation patterns can likewise impact the quality of water, as elevated water temperatures have the potential to reduce levels of dissolved oxygen, trigger a rise in nutrient pollution, and facilitate the proliferation of harmful algal blooms **[21-22]**. These impacts on rivers have far-reaching consequences for the provisioning and supporting ecosystem services they provide.

Climate change brings about numerous alterations in water bodies. These alterations occur at temporal and spatial scales. In a study conducted by Sabin-Shrestha et al. **[23]**, the impact of global climate change on low stream flows was examined in the Miami River watershed in Ohio, United States. The research aimed to evaluate the adaptability of prominent Global Circulation Models within a specific basin, specifically focusing on streamflow regimes. The authors employed the Soil and Water Assessment Tool (SWAT) and analyzed simulated historical and projected streamflow data from ten climate models. Three future periods (2016–2043, 2044–2071, and 2072–2099) were compared to a reference period (1988–2015). The study reported that an average of ten models projected a 19% increase in low 7-day stream flows in the watershed in the 21st century. Conversely, SWAT-simulated flows in response to most climate model projections showed a consistent increase in low-flow patterns. Wang et al. **[24]** studied the impacts of climate change on streamflow and water quality in a drinking water source area in northern China. The prediction of future climate change scenarios for the study area was conducted using long-term meteorological observation data and employing a combination of global climate models, a statistical downscaling model, and the Weather Generator of the National Climate Center/University

of Gothenburg. The authors indicate an overall increase in future precipitation changes and air temperature. Likewise, the impact of climate change will result in an escalation of discharge, total nitrogen, and total phosphorus loads within the examined region over the next three decades, as indicated by model evaluations **[24]**. Compared to the average value of the period from 1961 to 1990, the discharge is projected to undergo the most significant increase (15%), while the increase in total nitrogen and total phosphorus loads will be less pronounced, accompanied by a broader range of annual fluctuations between 2021 and 2050. Socially, low-income communities whose livelihoods depend on rivers will be the most affected. People whose income relies on fishing and other water-related activities will be impacted and will have to seek alternative means to generate income that meets their basic needs **[22]**.

2.5 Supporting and Regulating Ecosystem Services of Rivers

Rivers provide crucial regulating and supporting ecosystem services that contribute to the overall health and functioning of ecosystems. These services play a vital role in maintaining ecological balance and supporting human well-being. Rivers function as natural flood regulators by absorbing and storing excess water during heavy rainfall or snowmelt events, thus reducing the risk of flooding downstream **[25]**. Additionally, rivers help recharge groundwater by allowing water to infiltrate and replenish underground aquifers, ensuring a sustainable supply of freshwater **[26]**. They also facilitate water purification and nutrient cycling processes, acting as natural filters that remove pollutants and sediments, thereby enhancing water quality **[27-28]**. These regulating ecosystem services provided by rivers are crucial for maintaining the resilience and functionality of both aquatic and terrestrial ecosystems **[2]**.

In terms of supporting ecosystem services, rivers are fundamental to the functioning and productivity of ecosystems. These services contribute to the overall biodiversity, stability, and resilience of riverine and adjacent habitats. Rivers serve as habitats for a diverse range of species, including aquatic plants, invertebrates, and fish, supporting their life cycles, reproduction, and feeding **[10]**. The diverse habitats within rivers, such as riffles, pools, and wetlands, offer refuge, breeding grounds, and foraging opportunities for a wide array of organisms **[10]**. Moreover, rivers facilitate nutrient transport and cycling, as they transport sediments, organic matter, and nutrients downstream, enriching floodplains and coastal ecosystems **[10,28]**. These supporting ecosystem services of rivers are essential for maintaining the ecological integrity and functioning of entire watersheds. Overall, both services form the foundations for creating natural spaces for ecosystems to exist and produce and conserve their diversity **[8]**.

2.6 Impact of Climate Change on the Regulation and Supporting Ecosystem Services of Rivers

Climate change is expected to increase its negative effects on the regulation and supporting ecosystem services provided by rivers. These effects will alter hydrological patterns, water availability, and the overall functioning of riverine ecosystems. Climate change-induced shifts in precipitation patterns, increased evaporation rates, and changes in snowmelt dynamics can result in altered river flows, reduced water availability, and increased frequency of droughts **[18,20]**. These changes in water availability can disrupt the regulating ecosystem services of rivers, such as their ability to regulate floods and maintain stable water levels. Furthermore, changes in temperature and precipitation patterns can affect groundwater recharge, which can impact the availability of freshwater resources **[26]**. These alterations in water availability and hydrological patterns can have cascading effects on water purification, nutrient cycling, and overall water quality regulation provided by rivers **[27-28]**.

Areces-Berazain et al. **[29]** evaluated the potential effects of climate change on the hydrographic basins of the Bacuranao and Guanabo rivers in Cuba. Their study reported that any variation in rainfall patterns and temperature in relation to the current climate context will impact the river and water body pollution, native forest cover, and soil agricultural productivity. Conversely, Boru et al. **[30]** investigated the consequences of climate change on streamflow and water availability within the Anger sub-basin of the Ethiopian Nile Basin. The study examined the potential impact of climate change on streamflow and water availability in the specific case of the Anger sub-basin, which is situated in the southern region of the upper Blue Nile River basin. Employing various logical models, including SWAT, the researchers projected streamflow under different scenarios for the study periods spanning the 2020s and 2080s, considering current conditions. The study revealed a reduction of 7.43% in water resources for the 2020s and a further decrease of 11.3% for the 2080s.

2.7 Cultural Ecosystem Services

Aquatic ecosystems provide spaces for human recreation, reflection, and artistic inspiration. This benefit is classified as a cultural ecosystem service **[2,9]**. Rivers are ideal settings for recreation, especially in ecosystems suitable for boating or swimming. They offer recreational opportunities such as boating, fishing, swimming, and nature appreciation, which promote physical and mental well-being and foster a connection to nature **[31]**. Additionally, the landscapes observed by visitors in these spaces are often inspiring and motivating for creating works of art. Rivers have been sources of inspiration for art, literature, and music, shaping cultural expressions and providing a sense of place and heritage **[32]**. Similarly, they are an ideal place for meditation and reflection. Rivers also hold cultural and spiritual significance for many Indigenous communities, playing a central role in their traditions, rituals, and belief systems **[33]**. Moreover, rivers have historically served

as important transportation routes, facilitating trade, commerce, and cultural exchange between communities **[34]**.

2.8 Impact of Climate Change on the Cultural Ecosystem Services of Rivers

Climate change is anticipated to have significant impacts on the cultural ecosystem services provided by rivers, affecting the way people interact with and derive cultural values from these ecosystems. Changes in river flows, water availability, and water quality can have profound effects on recreational activities and cultural practices associated with rivers. Shifts in precipitation patterns and increased frequency of droughts may lead to reduced water levels and altered river flows, affecting activities such as boating, swimming, and fishing **[20]**. Changes in water temperature and quality can impact the suitability of rivers for recreational use and affect the abundance and distribution of fish species, impacting fishing traditions and cultural practices **[35]**. Additionally, changes in river ecosystems may disrupt the cultural and spiritual connections that Indigenous communities have with rivers, jeopardizing their cultural heritage and traditional knowledge **[33]**. In general, spaces to conduct these activities have been reduced due to climate change. According to a press release on 9 August 2021, about the latest report from the Intergovernmental Panel on Climate Change, increased temperatures, prolonged drought periods, and extreme weather events such as hurricanes will become more frequent. This endangers aquatic ecosystems as erosion and droughts could reduce river flow, rendering the space unsuitable for swimming and boating. Ecosystems represent a space for human recreation. For example, rivers provide an ideal setting for sports and boating. For instance, in Indonesia, the morphology of the Santirah River has allowed the development of water sports such as swimming and rowing. The morphological characteristics of this aquatic ecosystem have led to its development as a sports tourism destination **[36]**. Nonetheless, the presence of climate change-induced droughts has posed a significant threat to global water resources. An illustrative case is the Colorado River, where annual flows between 2000 and 2014 witnessed an average decline of 19% compared to the average recorded from 1906 to 1999 **[37]**.

3 I CONCLUSIONS

The ecosystem services provided by rivers have already begun to be affected by climate change. Ecosystem provisioning services such as freshwater and food provided by these ecosystems are increasingly threatened by climate change. Severe droughts, wildfires, and more frequent and intense weather events affect the quality of rivers and directly affect their ecosystem services. Similarly, the decline in aquatic biodiversity has an impact on the genetic diversity that flows among rivers. In the case of the regulation and supporting ecosystem services, the climate regulation provided by rivers, nutrient maintenance, and other supporting services is at stake due to industrialization and various human activities

that have accelerated climate change. Lastly, cultural ecosystem services are the benefits that humans can derive from ecosystems to engage in activities such as meditation and artistic inspiration. The reduction in river flows, increasing temperature in ecosystems, and other factors decrease human use of these ecosystems. As shown in the latest IPCC report, most of the adverse effects we are experiencing, and future generations will experience are clearly linked to human influence. Immediate social action is the only way to help mitigate climate change and attempt to reverse its impact on future generations.

REFERENCES

1. Intergovernmental Panel on Climate Change [IPCC]. Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. 2021. Available online: https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg1/downloads/report/IPCC_AR6_WGI_TS.pdf (accessed on 05 05 2023).

2. Evaluación de los Ecosistemas del Milenio [EEM]. *Ecosistemas y el Bienestar Humano: Síntesis de la Biodiversidad*; World Resources Institute: Washington, DC, USA, 2005.

3. Fontana, J.L. *Principios de Ecología*; Editorial Brujas: Córdoba, Argentina, 2016.

4. Intergovernmental Panel on Climate Change [IPCC]. Climate Change 2013: The Physical Science Basis. 2013. Available online: https://www.ipcc.ch/site/assets/uploads/2018/03/WG1AR5_SummaryVolume_FINAL.pdf (accessed on 05 05 2023).

5. Departamento de Recursos Naturales y Ambientales. Importancia de los Ríos. Hojas de Nuestro Ambiente. 2007. Available online: https://www.drna.pr.gov/wp-content/uploads/2015/04/Los-ríos.pdf (accesed on 12 02 2023).

6. Camacho-Valdez, V.; Ruiz-Luna, A. Marco Conceptual y clasificación de los servicios ecosistémicos. *Rev. BioCiencias* **2012**, *1*. Available online: http://revistabiociencias.uan.edu.mx/index.php/BIOCIENCIAS/article/view/19/17 (accessed on 05 05 2023).

7. Conde-Álvarez, C.; Saldaña-Zorrilla, S. Cambio climático en América Latina y el Caribe: Impactos, vulnerabilidad y adaptación. *Ambiente Desarro.* **2007**, *23*, 23–30.

8. Food and Agricultural Organization of the United Nations [FAO]. Ecosystem Services & Biodiversity. 2019. Available online: http://www.fao.org/ecosystem-services-biodiversity/background/provisioningservices/es/ (accessed on 04 04 2023).

9. Uribe, E. *El Cambio Climático y sus Efectos en la Biodiversidad en América Latina. Estudios del Cambio Climático en América Latina*; Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL): Santiago, Chile, 2015; Volume 1, pp. 1–69.

10. Dudgeon, D.; Arthington, A.H.; Gessner, M.O.; Kawabata, Z.-I.; Knowler, D.J.; Lévêque, C.; Naiman, R.J.; Prieur-Richard, A.-H.; Soto, D.; Stiassny, M.L.J.; et al. Freshwater biodiversity: Importance, threats, status and conservation challenges. *Biol. Rev.* **2016**, *81*, 163–182.

11. Nilsson, C.; Reidy, C.A.; Dynesius, M.; Revenga, C. Fragmentation and flow regulation of the world's large river systems. *Science* **2016**, *308*, 405–408.

12. Barletta, M.; Jaureguizar, A.J.; Baigun, C.; Fontoura, N.F.; Agostinho, A.A.; Almeida-Val, V.M.F.; Val, A.L.; Torres, R.A.; Jimenes-Segura, L.F.; Giarrizzo, T.; et al. Fish and aquatic habitat conservation in South America: A continental overview with emphasis on neotropical systems. *J. Fish Biol.* **2019**, *94*, 819–828.

13. Tharme, R.E. A global perspective on environmental flow assessment: Emerging trends in the development and application of environmental flow methodologies for rivers. *River Res. Appl.* **2003**, *19*, 397–441.

14. Ackermann, T.; Schneider, J.; Schumacher, K. Hydropower in the energy transition: A critical review of tensions and conflicts in the Mekong Region. *Energy Policy* **2016**, *96*, 511–523.

15. Brisbane, M.J.; Mekonnen, M.M.; Tilmant, A. Power generation system planning for low streamflow conditions: Balancing hydro and solar power. *Appl. Energy* **2019**, *250*, 39–50.

16. Mol, L.; van Vliet, M.T.H.; Wada, Y.; Aerts, J.C.J.H. Urban water demands and riverine freshwater withdrawals: A global analysis of main drivers. *Water Resour. Res.* **2019**, *55*, 1936–1956.

17. Barnett, T.P.; Adam, J.C.; Lettenmaier, D.P. Potential impacts of a warming climate on water availability in snow-dominated regions. *Nature* **2005**, *438*, 303–309.

18. Vörösmarty, C.J.; McIntyre, P.B.; Gessner, M.O.; Dudgeon, D.; Prusevich, A.; Green, P.; Glidden, S.; Bunn, S.E.; Sullivan, C.A.; Liermann, C.R.; et al. Global threats to human water security and river biodiversity. *Nature* **2010**, *467*, 555–561.

19. Arnell, N.W.; Gosling, S.N. The impacts of climate change on river flood risk at the global scale. *Clim. Chang.* **2013**, *128*, 345–356.

20. IPCC. *Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*; Pachauri, R.K., Meyer, L.A., Eds.; IPCC: Geneva, Switzerland, 2014.

21. Dokulil, M.T.; Teubner, K. Do phytoplankton communities correctly track trophic changes? An assessment using directly measured and palaeolimnological data. *Freshw. Biol.* **2010**, *55*, 939–957.

22. IPCC. *IPCC Special Report on the Ocean and Cryosphere in a Changing Climate*; IPCC: Geneva, Switzerland, 2019.

23. Sabin-Shrestha, S.; Sharma, S.; Gupta, R.; Bhattarai, R. Impact of global climate change on stream low flows: A case study of the great Miami river watershed, Ohio, USA. *Int. J. Agric. Biol. Eng.* **2019**, *12*, 84–95. Available online: https://ijabe.org/index.php/ijabe/article/view/4486/0 (accessed on 05 05 2023).

24. Wang, X.; Li, Z.; Li, M. Impacts of climate change on stream flow and water quality in a drinking water source area, Northern China. *Environ. Earth Sci.* **2018**, *77*, 410. https://doi.org/10.1007/s12665-018-7581-5.

25. Palmer, M.A.; Bernhardt, E.S.; Allan, J.D.; Lake, P.S.; Alexander, G.; Brooks, S.; Carr, J.; Clayton, S.; Dahm, C.N.; Follstad Shah, J.; et al. Standards for ecologically successful river restoration. *J. Appl. Ecol.* **2008**, *45*, 7–16.

26. Allen, D.M.; Mackie, D.C.; Wei, M.; Hrudey, S.E. Groundwater and climate change: A sensitivity analysis for the Canadian Prairies. *J. Hydrol.* **2013**, *479*, 75–88.

27. Dodds, W.K.; Bouska, W.W.; Eitzmann, J.L.; Pilger, T.J.; Pitts, K.L.; Riley, A.J.; Schloesser, J.T.; Thornbrugh, D.J. Eutrophication of US freshwaters: Analysis of potential economic damages. *Environ. Sci. Technol.* **2009**, *43*, 12–19.

28. Tockner, K.; Pennetzdorfer, D.; Reiner, N.; Schiemer, F.; Ward, J.V. Hydrological connectivity, and the exchange of organic matter and nutrients in a dynamic river–floodplain system (Danube, Austria). *Freshw. Biol.* **2009**, *51*, 702–712.

29. Areces-Berazain, F.; Wang, Y.; Hinsinger, D.D.; Strijk, J.S. Plastome comparative genomics in maples resolves the infrageneric backbone relationships. *PeerJ* **2020**, *8*, e9483. https://doi.org/10.7717/peerj.9483.

30. Boru, G.F.; Gonfa, Z.B.; Diga, G.M. Impacts of climate change on stream flow and water availability in Anger sub-basin, Nile Basin of Ethiopia. *Sustain. Water Resour. Manag.* **2019**, *5*, 1755–1764. https://doi.org/10.1007/s40899-019-00327-0.

31. Naidoo, R.; Balmford, A.; Costanza, R.; Fisher, B.; Green, R.E.; Lehner, B.; Green, R.E.; Lehner, B.; Malcolm, T.R.; Ricketts, T.H. Global mapping of ecosystem services and conservation priorities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2018**, *115*, 201718111.

32. Strang, V.; Carter, C.; Brockington, D. Framing the river: Politics, power and environment in the Three Gorges. *Br. J. Sociol.* **2014**, *65*, 232–256.

33. Berkes, F. *Sacred Ecology: Traditional Ecological Knowledge and Resource Management*; Routledge: Oxfordshire, UK, 2012.

34. McCormick, M.; Buizer, M.; Gupta, J. Perceptions of water scarcity in Canadian Prairie communities: Identification and assessment of meaningful water indicators. *Water Resour. Res.* **2010**, *46*.

35. Lynch, A.J.; Cooke, S.J.; Beard, T.D., Jr.; Kao, Y.-C.; Lorenzen, K.; Song, A.M.; Allen, M.S.; Basher, Z.; Bunnell, D.B.; Camp, E.V.; et al. Grand challenges in the management and conservation of North American inland fish and fisheries. *Fisheries* **2016**, *41*, 537–555.

36. Rahmafitria, F.; Wirakusuma, R.M.; Riswandi, A. Development of tourism potential in watersports recreation, Santirah river, Pangandaran regency, Indonesia. *People Int. J. Soc. Sci.* **2017**, *3*, 712–720. https://doi.org/10.20319/PIJSS.2017.S31.712720.

37. Udall, B.; Overpeck, J. The twenty-first century Colorado River hot drought and implications for the future. *Water Resour.* **2017**, *53*, 2404–2418. https://doi.org/10.1002/2016WR019638.

DANIELA REIS JOAQUIM DE FREITAS - Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (2000), com mestrado em Biologia Celular e Molecular (2002), doutorado em Ciências (2006) pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Durante o mestrado e o doutorado trabalhou diretamente com biologia celular e molecular e bioquímica, na clonagem e expressão de genes do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Também trabalhou com morte celular e estresse oxidativo no carrapato. Fez pós-doutorado na área de Ciências Médicas - Farmacologia (2007) na Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre. Atualmente é professora Adjunta III na Universidade Federal do Piauí, no Departamento de Parasitologia e Microbiologia, líder do Grupo de Estudos em Microbiologia e Parasitologia (NUEMP) e membro do Núcleo de Pesquisa em Prevenção e Controle de Infecções em Serviços de Saúde (NUPCISS). Também é docente permanente do Programa de Pós-Graduação em Enfermagem (PPGEnf-UFPI). Tem experiência nas áreas de Biologia Celular e Molecular, Imunologia, Parasitologia, Microbiologia e Farmacologia Experimental e tem linhas de pesquisa em Controle de Infecções em Serviços de Saúde, Infecções comunitárias e Educação em Saúde.

A

B

C

E

H

ÍNDICE REMISSIVO

L

M

N

O

P

R

S

LA CIENCIAS BIOLÓGICAS

y la construcción de nuevos paradigmas de conocimiento

www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br
@atenaeditora
www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Ano 2023